

Verfahren zur Herstellung von Ketocarotinoiden in genetisch veränderten, nicht-humanen Organismen

Beschreibung

5

Die vorliegende Erfindung betrifft ein Verfahren zur Herstellung von Ketocarotinoiden durch Kultivierung von genetisch veränderten Organismen, die im Vergleich zum Wildtyp eine veränderte Ketolase-Aktivität und eine veränderte β -Cyclase-Aktivität aufweisen, die genetisch veränderten Organismen, sowie deren Verwendung als Nahrungs- und Futtermittel und zur Herstellung von Ketocarotinoidextrakten.

10 Carotinoide werden *de novo* in Bakterien, Algen, Pilzen und Pflanzen synthetisiert. Ketocarotinoide, also Carotinide, die mindestens eine Keto-Gruppe enthalten, wie beispielsweise Astaxanthin, Canthaxanthin, Echinenon, 3-Hydroxyechinenon, 3'-Hydroxyechinenon, Adonirubin und Adonixanthin sind natürliche Antioxidantien und Pigmente, die von einigen Algen und Mikroorganismen als Sekundärmetabolite produziert werden.

15 Aufgrund ihrer farbgebenden Eigenschaften werden die Ketocarotinoide und insbesondere Astaxanthin als Pigmentierhilfsstoffe in der Tierernährung, insbesondere in der Forellen-, Lachs- und Shrimpszucht verwendet.

20 Die Herstellung von Astaxanthin erfolgt heutzutage größtenteils durch chemische Syntheseverfahren. Natürliche Ketocarotinoide, wie beispielsweise natürliches Astaxanthin, werden heutzutage in biotechnologischen Verfahren in kleinen Mengen durch Kultivierung von Algen, beispielsweise *Haematococcus pluvialis* oder durch Fermentation von gentechnologisch optimierten Mikroorganismen und anschließender Isolierung gewonnen.

25 Ein wirtschaftliches biotechnologisches Verfahren zur Herstellung von natürlichen Ketocarotinoiden ist daher von großer Bedeutung.

30 Nukleinsäuren kodierend eine Ketolase und die entsprechenden Proteinsequenzen sind aus verschiedenen Organismen isoliert und annotiert worden, wie beispielsweise Nukleinsäuren kodierend eine Ketolase aus *Agrobacterium aurantiacum* (EP 735 137, Accession NO: D58420), aus *Alcaligenes sp. PC-1* (EP 735137, Accession NO: D58422), *Haematococcus pluvialis Flotow em. Wille* und *Haematococcus pluvialis, NIES-144* (EP 725137, WO 98/18910 und Lotan et al, FEBS Letters 1995, 364, 125-128, Accession NO: X86782 und D45881), *Paracoccus marcusii* (Accession NO: Y15112), *Synechocystis sp. Strain PC6803* (Accession NO: NP_442491), *Bradyrhizobium sp.* (Accession NO: AF218415) und *Nostoc sp. PCC 7120* (Kaneko et al, DNA Res. 2001,

8(5), 205 - 213; Accession NO: AP003592, BAB74888).

EP 735 137 beschreibt die Herstellung von Xanthophyllen in Mikroorganismen, wie beispielsweise *E. coli* durch Einbringen von Ketolase-Genen (*crtW*) aus *Agrobacterium aurantiacum* oder *Alcaligenes sp. PC-1* in Mikroorganismen.

Aus EP 725 137, WO 98/18910, Kajiwara et al. (Plant Mol. Biol. 1995, 29, 343-352) und Hirschberg et al. (FEBS Letters 1995, 364, 125-128) ist es bekannt, Astaxanthin durch Einbringen von Ketolase-Genen aus *Haematococcus pluvialis* (*crtW*, *crtO* oder *bkt*) in *E. coli* herzustellen.

Hirschberg et al. (FEBS Letters 1997, 404, 129-134) beschreiben die Herstellung von Astaxanthin in *Synechococcus* durch Einbringen von Ketolase-Genen (*crtO*) aus *Haematococcus pluvialis*. Sandmann et al. (Photochemistry and Photobiology 2001, 73(5), 551-55) beschreiben ein analoges Verfahren, das jedoch zur Herstellung von Canthaxanthin führt und nur Spuren Astaxanthin liefert.

WO 98/18910 und Hirschberg et al. (Nature Biotechnology 2000, 18(8), 888-892) beschreiben die Synthese von Ketocarotinoiden in Nektarien von Tabakblüten durch Einbringen des Ketolase-Gens aus *Haematococcus pluvialis* (*crtO*) in Tabak.

WO 01/20011 beschreibt ein DNA Konstrukt zur Produktion von Ketocarotinoiden, insbesondere Astaxanthin, in Samen von Ölsaatenpflanzen wie Raps, Sonnenblume, Sojabohne und Senf unter Verwendung eines Samen-spezifischen Promoters und einer Ketolase aus *Haematococcus pluvialis*.

Alle im Stand der Technik beschriebenen Verfahren zur Herstellung von Ketocarotinoiden und insbesondere die beschriebenen Verfahren zur Herstellung von Astaxanthin weisen den Nachteil auf, dass einerseits die Ausbeute noch nicht befriedigend ist und andererseits die transgenen Organismen eine große Menge an hydroxylierten Nebenprodukten, wie beispielsweise Zeaxanthin und Adonixanthin liefern.

Der Erfindung lag daher die Aufgabe zugrunde, ein Verfahren zur Herstellung von Ketocarotinoiden durch Kultivierung von genetisch veränderten, nicht-humanen Organismen zur Verfügung zu stellen, bzw. weitere genetisch veränderte, nicht-humane Organismen, die Ketocarotinoide herstellen, zur Verfügung zu stellen, die die vorstehend beschriebenen Nachteile des Standes der Technik in geringerem Maße oder nicht mehr aufweisen oder die gewünschten Ketocarotenoide in höheren Ausbeuten liefern.

Demgemäß wurde ein Verfahren zur Herstellung von Ketocarotinoiden gefunden, indem man genetisch veränderte, nicht-humane Organismen kultiviert, die im Vergleich zum Wildtyp eine veränderte Ketolase-Aktivität und eine veränderte β-Cyclase-Aktivität aufweisen, und die veränderte β-Cyclase-Aktivität durch eine β-Cyclase verursacht

5 wird, enthaltend die Aminosäuresequenz SEQ. ID. NO. 2 oder eine von dieser Sequenz durch Substitution, Insertion oder Deletion von Aminosäuren abgeleitete Sequenz, die eine Identität von mindestens 70 % auf Aminosäureebene mit der Sequenz SEQ. ID. NO. 2 aufweist.

10 Unter einer „im Vergleich zum Wildtyp veränderten Ketolase-Aktivität“ wird für den Fall, dass der Ausgangsorganismus oder Wildtyp keine Ketolase-Aktivität aufweist, vorzugsweise eine „im Vergleich zum Wildtyp verursachte Ketolase-Aktivität“ verstanden.

Unter einer „im Vergleich zum Wildtyp veränderten Ketolase-Aktivität“ wird für den Fall, 15 dass der Ausgangsorganismus oder Wildtyp eine Ketolase-Aktivität aufweist, vorzugsweise eine „im Vergleich zum Wildtyp erhöhte Ketolase-Aktivität“ verstanden.

Unter einer „im Vergleich zum Wildtyp veränderten β-Cyclase-Aktivität“ wird für den Fall, dass der Ausgangsorganismus oder Wildtyp keine β-Cyclase-Aktivität aufweist, 20 vorzugsweise eine „im Vergleich zum Wildtyp verursachte β-Cyclase-Aktivität“ verstanden.

Unter einer „im Vergleich zum Wildtyp veränderten β-Cyclase-Aktivität“ wird für den Fall, dass der Ausgangsorganismus oder Wildtyp eine β-Cyclase-Aktivität aufweist, 25 vorzugsweise eine „im Vergleich zum Wildtyp erhöhte β-Cyclase -Aktivität“ verstanden.

Die erfindungsgemäßen, nicht-humanen Organismen wie beispielsweise Mikroorganismen oder Pflanzen sind vorzugsweise als Ausgangsorganismen natürlicherweise in der Lage, Carotinoide wie beispielsweise β-Carotin oder Zeaxanthin herzustellen, oder 30 können durch genetische Veränderung, wie beispielsweise Umregulierung von Stoffwechselwegen oder Komplementierung in die Lage versetzt werden, Carotinoide wie beispielsweise β-Carotin oder Zeaxanthin herzustellen.

Einige Organismen sind als Ausgangs- oder Wildtyporganismen bereits in der Lage, 35 Ketocarotinoidewie beispielsweise Astaxanthin oder Canthaxanthin herzustellen. Diese Organismen, wie beispielsweise *Haematococcus pluvialis*, *Paracoccus marcusii*, *Xanthophyllomyces dendrorhous*, *Bacillus circulans*, *Chlorococcum*, *Phaffia rhodozyma*, *Adonisröschen*, *Neochloris wimmeri*, *Protosiphon botryoides*, *Scotiellopsis oocystifor-
mis*, *Scenedesmus vacuolatus*, *Chlorella zofingiensis*, *Ankistrodesmus braunii*, *Euglena
sanguinea* und *Bacillus atrophaeus* weisen bereits als Ausgangs- oder Wildtyporga-

nismus eine Ketolase-Aktivität und eine β -Cyclase-Aktivität auf.

Unter dem Begriff "Wildtyp" wird erfindungsgemäß der entsprechende Ausgangsorganismus verstanden.

5

Je nach Zusammenhang kann unter dem Begriff "Organismus" der nicht-humanen Ausgangsorganismus (Wildtyp) oder ein erfindungsgemäßer, genetisch veränderter, nicht-humaner Organismus oder beides verstanden werden.

- 10 Vorzugsweise und insbesondere in Fällen, in denen die Pflanze oder der Wildtyp nicht eindeutig zugeordnet werden kann, wird unter "Wildtyp" für die Erhöhung oder Verursachung der Ketolase-Aktivität, für die nachstehend beschriebene Erhöhung oder Verursachung der Hydroxylase-Aktivität, für die nachstehend beschriebene Erhöhung oder Verursachung der β -Cyclase-Aktivität, für die nachstehend beschriebene Erhöhung der
- 15 HMG-CoA-Reduktase-Aktivität, für die nachstehend beschriebene Erhöhung der (E)-4-Hydroxy-3-Methylbut-2-enyl-Diphosphat-Reduktase-Aktivität, für die nachstehend beschriebene Erhöhung der 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Synthase-Aktivität, für die nachstehend beschriebene Erhöhung der 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Reduktoisomerase-Aktivität, für die nachstehend beschriebene Erhöhung der Isopen-
- 20 tenyl-Diphosphat- Δ -Isomerase-Aktivität, für die nachstehend beschriebene Erhöhung der Geranyl-Diphosphat-Synthase-Aktivität, für die nachstehend beschriebene Erhöhung der Farnesyl-Diphosphat-Synthase-Aktivität, für die nachstehend beschriebene Erhöhung der Geranyl-geranyl-Diphosphat-Synthase-Aktivität, für die nachstehend beschriebene Erhöhung der Phytoen-Synthase-Aktivität, für die nachstehend beschrie-
- 25 bene Erhöhung der Phytoen-Desaturase-Aktivität, für die nachstehend beschriebene Erhöhung der Zeta-Carotin-Desaturase-Aktivität, für die nachstehend beschriebene Erhöhung der crtISO-Aktivität, für die nachstehend beschriebene Erhöhung der FtsZ-Aktivität, für die nachstehend beschriebene Erhöhung der MinD-Aktivität, für die nachstehend beschriebene Reduzierung der ε -Cyclase-Aktivität und für die nachstehend
- 30 beschriebene Reduzierung der endogenen β -Hydroxylase Aktivität und die Erhöhung des Gehalts an Ketocarotinoiden jeweils ein Referenzorganismus verstanden.

Dieser Referenzorganismus ist für Mikroorganismen, die bereits als Wildtyp eine Ketolase Aktivität aufweisen, vorzugsweise *Haematococcus pluvialis*.

35

Dieser Referenzorganismus ist für Mikroorganismen, die als Wildtyp keine Ketolase Aktivität aufweisen, vorzugsweise *Blakeslea*.

40

Dieser Referenzorganismus ist für Pflanzen, die bereits als Wildtyp eine Ketolase-Aktivität aufweisen, vorzugsweise *Adonis aestivalis*, *Adonis flammeus* oder *Adonis*

annuus, besonders bevorzugt *Adonis aestivalis*.

- Dieser Referenzorganismus ist für Pflanzen, die als Wildtyp keine Ketolase-Aktivität in Blütenblätter aufweisen, vorzugsweise *Tagetes erecta*, *Tagetes patula*, *Tagetes lucida*,
5 *Tagetes pringlei*, *Tagetes palmeri*, *Tagetes minuta* oder *Tagetes campanulata*, beson-
ders bevorzugt *Tagetes erecta*.

Unter Ketolase-Aktivität wird die Enzymaktivität einer Ketolase verstanden.

- 10 Unter einer Ketolase wird ein Protein verstanden, das die enzymatische Aktivität auf-
weist, am, gegebenenfalls substituierten, β-Ionon-Ring von Carotinoiden eine Keto-
Gruppe einzuführen.

- 15 Insbesondere wird unter einer Ketolase ein Protein verstanden, das die enzymatische
Aktivität aufweist, β-Carotin in Canthaxanthin umzuwandeln.

Dementsprechend wird unter Ketolase-Aktivität die in einer bestimmten Zeit durch das
Protein Ketolase umgesetzte Menge β-Carotin bzw. gebildete Menge Canthaxanthin
verstanden.

- 20 In einer Ausführungsform des erfindungsgemäßen Verfahrens werden als Ausgangs-
organismen nicht-humane Organismen verwendet, die bereits als Wildtyp oder Aus-
gangsorganismus eine Ketolase-Aktivität aufweisen, wie beispielsweise *Haematococ-
cusc pluvialis*, *Paracoccus marcusii*, *Xanthophyllomyces dendrorhous*, *Bacillus circu-
lans*, *Chlorococcum*, *Phaffia rhodozyma*, *Adonisröschen*, *Neochloris wimme-
ri*, *Protosiphon botryoides*, *Scotiellopsis oocystiformis*, *Scenedesmus vacuolatus*, *Chlo-
rella zofingiensis*, *Ankistrodesmus braunii*, *Euglena sanguinea* oder *Bacillus
atrophaeus*. In dieser Ausführungsform bewirkt die genetische Veränderung eine Erhö-
hung der Ketolase-Aktivität im Vergleich zum Wildtyp oder Ausgangsorganismus.

- 25 30 Bei einer erhöhten Ketolase-Aktivität gegenüber dem Wildtyp wird im Vergleich zum
Wildtyp in einer bestimmten Zeit durch das Protein Ketolase die umgesetzte Menge β-
Carotin bzw. die gebildete Menge Canthaxanthin erhöht.

- 35 Vorzugsweise beträgt diese Erhöhung der Ketolase-Aktivität mindestens 5 %, weiter
bevorzugt mindestens 20 %, weiter bevorzugt mindestens 50 %, weiter bevorzugt min-
destens 100 %, bevorzugter mindestens 300 %, noch bevorzugter mindestens 500 %,
insbesondere mindestens 600 % der Ketolase-Aktivität des Wildtyps.

Die Bestimmung der Ketolase-Aktivität in erfindungsgemäßen genetisch veränderten Organismen und in Wildtyp- bzw. Referenzorganismen erfolgt vorzugsweise unter folgenden Bedingungen:

- 5 Die Bestimmung der Ketolase-Aktivität in Pflanzen- oder Mikroorganismenmaterial erfolgt in Anlehnung an die Methode von Fraser et al., (J. Biol. Chem. 272(10): 6128-6135, 1997). Die Ketolase-Aktivität in pflanzlichen oder Mikroorganismus-Extrakten wird mit den Substraten β-Carotin und Canthaxanthin in Gegenwart von Lipid (Sojalecithin) und Detergens (Natriumcholat) bestimmt. Substrat/Produkt-Verhältnisse aus den
- 10 Ketolase-Assays werden mittels HPLC ermittelt.

Die Erhöhung der Ketolase-Aktivität kann durch verschiedene Wege erfolgen, beispielsweise durch Ausschalten von hemmenden Regulationsmechanismen auf Translations- und Proteinebene oder durch Erhöhung der Genexpression einer Nukleinsäure

- 15 kodierend eine Ketolase gegenüber dem Wildtyp, beispielsweise durch Induzierung des Ketolase-Gens durch Aktivatoren oder durch Einbringen von Nukleinsäuren kodierend eine Ketolase in den Organismus.

- 20 Unter Erhöhung der Genexpression einer Nukleinsäure kodierend eine Ketolase wird erfindungsgemäß in dieser Ausführungsform auch die Manipulation der Expression der Organismus eigenen endogenen Ketolasen verstanden. Dies kann beispielsweise durch Veränderung der Promotor DNA-Sequenz für Ketolase kodierende Gene erreicht werden. Eine solche Veränderung, die eine veränderte oder vorzugsweise erhöhte Expressionsrate mindestens eines endogenen Ketolase Gens zur Folge hat, kann
- 25 durch Deletion oder Insertion von DNA Sequenzen erfolgen.

- 30 Es ist wie vorstehend beschrieben möglich, die Expression mindestens einer endogenen Ketolase durch die Applikation exogener Stimuli zu verändern. Dies kann durch besondere physiologische Bedingungen, also durch die Applikation von Fremdstanzen erfolgen.

- 35 Des weiteren kann eine erhöhte Expression mindestens eines endogenen Ketolase-Gens dadurch erzielt werden, dass ein im Wildtyporganismus nicht vorkommendes oder modifiziertes Regulator-Protein mit dem Promotor dieser Gene in Wechselwirkung tritt.

Solch ein Regulator kann ein chimäres Protein darstellen, welches aus einer DNA-Bindedomäne und einer Transkriptionsaktivator-Domäne besteht, wie beispielsweise in WO 96/06166 beschrieben.

In einer bevorzugten Ausführungsform erfolgt die Erhöhung der Ketolase-Aktivität gegenüber dem Wildtyp durch die Erhöhung der Genexpression einer Nukleinsäure, kodierend eine Ketolase.

- 5 In einer weiter bevorzugten Ausführungsform erfolgt die Erhöhung der Genexpression einer Nukleinsäure kodierend eine Ketolase durch Einbringen von Nukleinsäuren, die Ketolasen kodieren, in den Organismus.

10 In den erfindungsgemäßen transgenen Organismen liegt also in dieser Ausführungsform gegenüber dem Wildtyp mindestens ein weiteres Ketolase-Gen vor. In dieser Ausführungsform weist der erfindungsgemäße genetisch veränderte Organismus vorzugsweise mindestens eine exogene (=heterologe) Nukleinsäure, kodierend eine Ketolase, auf oder mindestens zwei endogene Nukleinsäuren, kodierend eine Ketolase, auf.

15 In einer anderen, bevorzugten Ausführungsform des erfindungsgemäßen Verfahrens werden als Ausgangsorganismen nicht-humane Organismen verwendet, die als Wildtyp keine Ketolase-Aktivität aufweisen, wie beispielsweise *Blakeslea*, *Marigold*, *Tagetes erecta*, *Tagetes lucida*, *Tagetes minuta*, *Tagetes pringlei*, *Tagetes palmeri* und *Tagetes campanulata*.

20 In dieser, bevorzugten Ausführungsform verursacht die genetische Veränderung die Ketolase-Aktivität in den Organismen. Der erfindungsgemäße genetisch veränderte Organismus weist somit in dieser, bevorzugten Ausführungsform im Vergleich zum genetisch nicht veränderten Wildtyp eine Ketolase-Aktivität auf und ist somit vorzugsweise in der Lage, transgen eine Ketolase zu exprimieren.

25 In dieser bevorzugten Ausführungsform erfolgt die Verursachung der Genexpression einer Nukleinsäure kodierend eine Ketolase analog zu der vorstehend beschriebenen Erhöhung der Genexpression einer Nukleinsäure kodierend eine Ketolase vorzugsweise durch Einbringen von Nukleinsäuren, die Ketolasen kodieren in den Ausgangsorganismus.

Dazu kann in beiden Ausführungsformen prinzipiell jedes Ketolase-Gen, also jede Nukleinsäuren die eine Ketolase kodiert verwendet werden.

30 Alle in der Beschreibung erwähnten Nukleinsäuren können beispielsweise eine RNA-, DNA- oder cDNA-Sequenz sein.

35 Bei genomischen Ketolase-Sequenzen aus eukaryontischen Quellen, die Introns enthalten, sind für den Fall, dass die Wirtsorganismus nicht in der Lage ist oder nicht in

die Lage versetzt werden kann, die entsprechenden Ketolase zu exprimieren, bevorzugt bereits prozessierte Nukleinsäuresequenzen, wie die entsprechenden cDNAs zu verwenden.

- 5 Beispiele für Nukleinsäuren, kodierend eine Ketolase und die entsprechenden Ketolase, die im erfindungsgemäßen Verfahren verwendet werden können sind beispielsweise Sequenzen aus

Haematoccus pluvialis, insbesondere aus Haematoccus pluvialis Flotow em. Wille (Accession NO: X86782; Nukleinsäure: SEQ ID NO: 3, Protein SEQ ID NO: 4),

Haematoccus pluvialis, NIES-144 (Accession NO: D45881; Nukleinsäure: SEQ ID NO: 35, Protein SEQ ID NO: 36),

15 Agrobacterium aurantiacum (Accession NO: D58420; Nukleinsäure: SEQ ID NO: 37, Protein SEQ ID NO: 38),

Alicaligenes spec. (Accession NO: D58422; Nukleinsäure: SEQ ID NO: 39, Protein SEQ ID NO: 40),

20 Paracoccus marcusii (Accession NO: Y15112; Nukleinsäure: SEQ ID NO: 41, Protein SEQ ID NO: 42).

Synechocystis sp. Strain PC6803 (Accession NO: NP442491; Nukleinsäure: SEQ ID NO: 43, Protein SEQ ID NO: 44).

Bradyrhizobium sp. (Accession NO: AF218415; Nukleinsäure: SEQ ID NO: 45, Protein SEQ ID NO: 46).

30 Nostoc sp. Strain PCC7120 (Accession NO: AP003592, BAB74888; Nukleinsäure: SEQ ID NO: 47, Protein SEQ ID NO: 48).

Haematococcus pluvialis
(Accession NO: AF534876, AAN03484; Nukleinsäure: SEQ ID NO: 49, Protein : SEQ ID NO: 50)

Paracoccus sp. MBIC1143
(Accession NO: D58420, P54972; Nukleinsäure: SEQ ID NO: 51, Protein : SEQ ID NO: 52)

Brevundimonas aurantiaca

(Accession NO: AY166610, AAN86030; Nukleinsäure: SEQ ID NO: 53, Protein : SEQ ID NO: 54)

5 Nodularia spumigena NSOR10

(Accession NO: AY210783, AAO64399; Nukleinsäure: SEQ ID NO: 55, Protein : SEQ ID NO: 56)

Nostoc punctiforme ATCC 29133

10 (Accession NO: NZ_AABC01000195, ZP_00111258; Nukleinsäure: SEQ ID NO: 57, Protein : SEQ ID NO: 58)

Nostoc punctiforme ATCC 29133

15 (Accession NO: NZ_AABC01000196; Nukleinsäure: SEQ ID NO: 59, Protein : SEQ ID NO: 60)

Deinococcus radiodurans R1

20 (Accession NO: E75561, AE001872; Nukleinsäure: SEQ ID NO: 61, Protein : SEQ ID NO: 62),

Synechococcus sp. WH 8102,

Nukleinsäure: Acc.-No. NZ_AABD01000001, Basenpaar 1,354,725-1,355,528 (SEQ ID NO: 75), Protein: Acc.-No. ZP_00115639 (SEQ ID NO: 76) (als putatives Protein. annotiert),

25

oder von diesen Sequenzen abgeleitete Sequenzen, wie beispielsweise

die Ketolasen der Sequenz SEQ ID NO: 64 oder 66 und die entsprechenden kodierenden Nukleinsäuresequenzen SEQ ID NO: 63 oder SEQ ID NO: 65, die beispielsweise 30 durch Variation/Mutation aus der Sequenz SEQ ID NO: 58 bzw. SEQ ID NO: 57 hervorgehen,

die Ketolasen der Sequenz SEQ ID NO: 68 oder 70 und die entsprechenden kodierenden Nukleinsäuresequenzen SEQ ID NO: 67 oder SEQ ID NO: 69, die beispielsweise 35 durch Variation/Mutation aus der Sequenz SEQ ID NO: 60 bzw. SEQ ID NO: 59 hervorgehen, oder

die Ketolasen der Sequenz SEQ ID NO: 72 oder 74 und die entsprechenden kodierenden Nukleinsäuresequenzen SEQ ID NO: 71 oder SEQ ID NO: 73, die beispielsweise 40 durch Variation bzw. Mutation aus der Sequenz SEQ ID NO: 76 bzw. SEQ ID NO: 75

hervorgehen.

- Weitere natürliche Beispiele für Ketolasen und Ketolase-Gene, die im erfindungsge-mäßen Verfahren verwendet werden können, lassen sich beispielsweise aus verschie-5 denen Organismen, deren genomische Sequenz bekannt ist, durch Identitätsvergleiche der Aminosäuresequenzen oder der entsprechenden rückübersetzten Nukleinsäurese-quenzen aus Datenbanken mit den vorstehend beschriebenen Sequenzen und insbe-sondere mit den Sequenzen SEQ ID NO: 4 und/oder 48 und/oder 58 und/oder 60 leicht auffinden.

10

- Weitere natürliche Beispiele für Ketolasen und Ketolase-Gene lassen sich weiterhin ausgehend von den vorstehend beschriebenen Nukleinsäuresequenzen, insbesondere ausgehend von den Sequenzen SEQ ID NO: 3 und/oder 47 und/oder 57 und/oder 59 aus verschiedenen Organismen, deren genomische Sequenz nicht bekannt ist, durch 15 Hybridisierungstechniken in an sich bekannter Weise leicht auffinden.

Die Hybridisierung kann unter moderaten (geringe Stringenz) oder vorzugsweise unter stringenten (hohe Stringenz) Bedingungen erfolgen.

- 20 Solche Hybridisierungsbedingungen, die für alle Nukleinsäuren der Beschreibung gel-tten, sind beispielsweise bei Sambrook, J., Fritsch, E.F., Maniatis, T., in: Molecular Clo-ning (A Laboratory Manual), 2. Auflage, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989, Seiten 9.31-9.57 oder in Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, N.Y. (1989), 6.3.1-6.3.6 beschrieben.

25

Beispielhaft können die Bedingungen während des Waschschrifites ausgewählt sein aus dem Bereich von Bedingungen begrenzt von solchen mit geringer Stringenz (mit 2X SSC bei 50°C) und solchen mit hoher Stringenz (mit 0.2X SSC bei 50°C, bevorzugt bei 65°C) (20X SSC: 0,3 M Natriumcitrat, 3 M Natriumchlorid, pH 7.0).

30

Darüberhinaus kann die Temperatur während des Waschschrifites von moderaten Be-dingungen bei Raumtemperatur, 22°C, bis zu strigenten Bedingungen bei 65°C ange-hoben werden.

35

Beide Parameter, Salzkonzentration und Temperatur, können gleichzeitig variiert wer-den, auch kann einer der beiden Parameter konstant gehalten und nur der andere vari-iert werden. Während der Hybridisierung können auch denaturierende Agenzien wie zum Beispiel Formamid oder SDS eingesetzt werden. In Gegenwart von 50 % Forma-mid wird die Hybridisierung bevorzugt bei 42°C ausgeführt.

40

Einige beispielhafte Bedingungen für Hybridisierung und Waschschrift sind infolge gegeben:

(1) Hybridisierungsbedingungen mit zum Beispiel

5

(i) 4X SSC bei 65°C, oder

(ii) 6X SSC bei 45°C, oder

10 (iii) 6X SSC bei 68°C, 100 mg/ml denaturierter Fischsperma-DNA, oder

(iv) 6X SSC, 0.5 % SDS, 100 mg/ml denaturierte, fragmentierte Lachssperma-DNA bei 68°C, oder

15 (v) 6XSSC, 0.5 % SDS, 100 mg/ml denaturierte, fragmentierte Lachssperma-DNA, 50 % Formamid bei 42°C, oder

(vi) 50 % Formamid, 4X SSC bei 42°C, oder

20 (vii) 50 % (vol/vol) Formamid, 0.1 % Rinderserumalbumin, 0.1 % Ficoll, 0.1 % Polyvinylpyrrolidon, 50 mM Natriumphosphatpuffer pH 6.5, 750 mM NaCl, 75 mM Natriumcitrat bei 42°C, oder

(viii) 2X oder 4X SSC bei 50°C (moderate Bedingungen), oder

25

(ix) 30 bis 40 % Formamid, 2X oder 4X SSC bei 42_ (moderate Bedingungen).

(2) Waschschrifte für jeweils 10 Minuten mit zum Beispiel

30 (i) 0.015 M NaCl/0.0015 M Natriumcitrat/0.1 % SDS bei 50°C, oder

(ii) 0.1X SSC bei 65°C, oder

(iii) 0.1X SSC, 0.5 % SDS bei 68°C, oder

35

(iv) 0.1X SSC, 0.5 % SDS, 50 % Formamid bei 42°C, oder

(v) 0.2X SSC, 0.1 % SDS bei 42°C, oder

(vi) 2X SSC bei 65°C (moderate Bedingungen).

In einer bevorzugten Ausführungsform der erfindungsgemäßigen Verfahren bringt man Nukleinsäuren ein, die ein Protein kodieren, enthaltend die Aminosäuresequenz

- 5 SEQ ID NO: 4 oder eine von dieser Sequenz durch Substitution, Insertion oder Deletion von Aminosäuren abgeleitete Sequenz, die eine Identität von mindestens 70 %, vorzugsweise mindestens 80 %, bevorzugter mindestens 85 %, bevorzugter mindestens 90 %, bevorzugter mindestens 95 %, bevorzugter mindestens 97 %, bevorzugter mindestens 98 %, besonders bevorzugt mindestens 99 % auf Aminosäureebene mit
10 der Sequenz SEQ ID NO: 4 und die enzymatische Eigenschaft einer Ketolase aufweist.

Dabei kann es sich um eine natürliche Ketolase-Sequenz handeln, die wie vorstehend beschrieben, durch Identitätsvergleich der Sequenzen aus anderen Organismen gefunden werden kann oder um eine künstliche Ketolase-Sequenz die ausgehend von

- 15 der Sequenz SEQ ID NO: 4 durch künstliche Variation, beispielsweise durch Substitution, Insertion oder Deletion von Aminosäuren abgewandelt wurde.

In einer weiteren, bevorzugten Ausführungsform der erfindungsgemäßigen Verfahren bringt man Nukleinsäuren ein, die ein Protein kodieren, enthaltend die Aminosäurese-

- 20 quenz SEQ ID NO: 48 oder eine von dieser Sequenz durch Substitution, Insertion oder Deletion von Aminosäuren abgeleitete Sequenz, die eine Identität von mindestens 70 %, vorzugsweise mindestens 80 %, bevorzugter mindestens 85 %, bevorzugter mindestens 90 %, bevorzugter mindestens 95 %, bevorzugter mindestens 97 %, bevorzugter mindestens 98 %, besonders bevorzugt mindestens 99 % auf Aminosäureebene mit
25 der Sequenz SEQ ID NO: 48 und die enzymatische Eigenschaft einer Ketolase aufweist.

Dabei kann es sich um eine natürliche Ketolase-Sequenz handeln, die, wie vorstehend beschrieben, durch Identitätsvergleich der Sequenzen aus anderen Organismen ge-

- 30 funden werden kann oder um eine künstliche Ketolase-Sequenz die ausgehend von der Sequenz SEQ ID NO: 48 durch künstliche Variation, beispielsweise durch Substitution, Insertion oder Deletion von Aminosäuren abgewandelt wurde.

In einer weiteren, bevorzugten Ausführungsform der erfindungsgemäßigen Verfahren

- 35 bringt man Nukleinsäuren ein die ein Protein kodieren, enthaltend die Aminosäuresequenz SEQ ID NO: 58 oder eine von dieser Sequenz durch Substitution, Insertion oder Deletion von Aminosäuren abgeleitete Sequenz, die eine Identität von mindestens 70 %, vorzugsweise mindestens 80 %, bevorzugter mindestens 85 %, bevorzugter mindestens 90 %, bevorzugter mindestens 95 %, bevorzugter mindestens 97 %, bevorzugter mindestens 98 %, besonders bevorzugt mindestens 99 % auf Aminosäureebene mit
40

der Sequenz SEQ ID NO: 58 und die enzymatische Eigenschaft einer Ketolase aufweist.

- Dabei kann es sich um eine natürliche Ketolase-Sequenz handeln, die, wie vorstehend 5 beschrieben, durch Identitätsvergleich der Sequenzen aus anderen Organismen gefunden werden kann oder um eine künstliche Ketolase-Sequenz die ausgehend von der Sequenz SEQ ID NO: 58 durch künstliche Variation, beispielsweise durch Substitution, Insertion oder Deletion von Aminosäuren abgewandelt wurde.
- 10 In einer weiteren, bevorzugten Ausführungsform der erfindungsgemäßen Verfahren bringt man Nukleinsäuren ein die ein Protein kodieren, enthaltend die Aminosäuresequenz SEQ ID NO: 60 oder eine von dieser Sequenz durch Substitution, Insertion oder Deletion von Aminosäuren abgeleitete Sequenz, die eine Identität von mindestens 70 %, vorzugsweise mindestens 80 %, bevorzugter mindestens 85 %, bevorzugter mindestens 15 90 %, bevorzugter mindestens 95 %, bevorzugter mindestens 97 %, bevorzugter mindestens 98 %, besonders bevorzugt mindestens 99 % auf Aminosäureebene mit der Sequenz SEQ ID NO: 60 und die enzymatische Eigenschaft einer Ketolase aufweist.
- 20 Dabei kann es sich um eine natürliche Ketolase-Sequenz handeln, die, wie vorstehend beschrieben, durch Identitätsvergleich der Sequenzen aus anderen Organismen gefunden werden kann oder um eine künstliche Ketolase-Sequenz die ausgehend von der Sequenz SEQ ID NO: 60 durch künstliche Variation, beispielsweise durch Substitution, Insertion oder Deletion von Aminosäuren abgewandelt wurde.
- 25 Unter dem Begriff "Substitution" ist in der Beschreibung für alle Proteine der Austausch einer oder mehrerer Aminosäuren durch eine oder mehrere Aminosäuren zu verstehen. Bevorzugt werden sog. konservative Austausche durchgeführt, bei denen die 30 ersetzte Aminosäure eine ähnliche Eigenschaft hat wie die ursprüngliche Aminosäure, beispielsweise Austausch von Glu durch Asp, Gln durch Asn, Val durch Ile, Leu durch Ile, Ser durch Thr.

Deletion ist das Ersetzen einer Aminosäure durch eine direkte Bindung. Bevorzugte Positionen für Deletionen sind die Termini des Polypeptides und die Verknüpfungen 35 zwischen den einzelnen Proteindomänen.

Insertionen sind Einfügungen von Aminosäuren in die Polypeptidkette, wobei formal eine direkte Bindung durch ein oder mehrere Aminosäuren ersetzt wird.

Unter Identität zwischen zwei Proteinen wird die Identität der Aminosäuren über die jeweils gesamte Proteinlänge verstanden, insbesondere die Identität die durch Vergleich mit Hilfe der Vector NTI Suite 7.1 Software der Firma Informax (USA) unter Anwendung der Clustal Methode (Higgins DG, Sharp PM. Fast and sensitive multiple sequence alignments on a microcomputer. Comput Appl Biosci. 1989 Apr;5(2):151-1)

unter Einstellung folgender Parameter berechnet wird:

Multiple alignment parameter:

- Gap opening penalty 10
10 Gap extension penalty 10
Gap separation penalty range 8
Gap separation penalty off
% identity for alignment delay 40
Residue specific gaps off
15 Hydrophilic residue gap off
Transition weighing 0

Pairwise alignment parameter:

- FAST algorithm on
K-tuplesize 1
20 Gap penalty 3
Window size 5
Number of best diagonals 5

Unter einem Protein, das eine Identität von mindestens 70 % auf Aminosäureebene mit einer bestimmten Sequenz aufweist, wird dementsprechend ein Protein verstanden, das bei einem Vergleich seiner Sequenz mit der bestimmten Sequenz insbesondere nach obigem Programmlogarithmus mit obigem Parametersatz eine Identität von mindestens 70 % aufweist.

30 Unter einem Protein, das beispielsweise eine Identität von mindestens 70 % auf Aminosäureebene mit der Sequenz SEQ ID NO: 4 oder 48 oder 58 oder 60 aufweist, wird dementsprechend ein Protein verstanden, das bei einem Vergleich seiner Sequenz mit der Sequenz SEQ ID NO: 4 oder 48 oder 58 oder 60, insbesondere nach obigen Programmlogarithmus mit obigem Parametersatz eine Identität von mindestens 35 70 % aufweist.

Geeignete Nukleinsäuresequenzen sind beispielsweise durch Rückübersetzung der Polypeptidsequenz gemäß dem genetischen Code erhältlich.

- Bevorzugt werden dafür solche Codons verwendet, die entsprechend der organismus-
5 spezifischen codon usage häufig verwendet werden. Die codon usage lässt sich an-
hand von Computerauswertungen anderer, bekannter Gene der betreffenden Orga-
nismen leicht ermitteln.

- In einer besonders bevorzugten Ausführungsform bringt man eine Nukleinsäure, ent-
10 haltend die Sequenz SEQ ID NO: 3 in die Pflanze ein.

In einer weiteren, besonders bevorzugten Ausführungsform bringt man eine Nuklein-
säure, enthaltend die Sequenz SEQ ID NO: 48 in die Pflanze ein.

- 15 In einer weiteren, besonders bevorzugten Ausführungsform bringt man eine Nuklein-
säure, enthaltend die Sequenz SEQ ID NO: 58 in die Pflanze ein.

In einer weiteren, besonders bevorzugten Ausführungsform bringt man eine Nuklein-
säure, enthaltend die Sequenz SEQ ID NO: 60 in die Pflanze ein.

- 20 Alle vorstehend erwähnten Ketolase-Gene sind weiterhin in an sich bekannter Weise
durch chemische Synthese aus den Nukleotidbausteinen wie beispielsweise durch
Fragmentkondensation einzelner überlappender, komplementärer Nukleinsäurebau-
steine der Doppelhelix herstellbar. Die chemische Synthese von Oligonukleotiden kann
25 beispielsweise, in bekannter Weise, nach der Phosphoamiditmethode (Voet, Voet, 2.
Auflage, Wiley Press New York, S. 896-897) erfolgen. Die Anlagerung synthetischer
Oligonukleotide und Auffüllen von Lücken mithilfe des Klenow-Fragmentes der DNA-
Polymerase und Ligationsreaktionen sowie allgemeine Klonierungsverfahren werden in
Sambrook et al. (1989), Molecular cloning: A laboratory manual, Cold Spring Harbor
30 Laboratory Press, beschrieben

- Wie vorstehend erwähnt, weisen die im erfindungsgemäßen Verfahren verwendeten
nicht-humanen Organismen im Vergleich zum Wildtyp eine veränderte Ketolase-
Aktivität und eine veränderte β-Cyclase-Aktivität auf, wobei die veränderte β-Cyclase-
35 Aktivität durch eine β-Cyclase verursacht wird, enthaltend die Aminosäuresequenz
SEQ. ID. NO. 2 oder eine von dieser Sequenz durch Substitution, Insertion oder Dele-
tion von Aminosäuren abgeleitete Sequenz, die eine Identität von mindestens 70 % auf
Aminosäureebene mit der Sequenz SEQ. ID. NO. 2 aufweist.

- In einer Ausführungsform des erfindungsgemäßen Verfahrens werden als Ausgangsorganismen nicht-humane Organismen verwendet, die bereits als Wildtyp oder Ausgangsorganismus eine β -Cyclase-Aktivität aufweisen. In dieser Ausführungsform bewirkt die genetische Veränderung eine Erhöhung der β -Cyclase-Aktivität im Vergleich
- 5 zum Wildtyp oder Ausgangsorganismus, wobei die erhöhte β -Cyclase-Aktivität durch eine β -Cyclase verursacht wird, enthaltend die Aminosäuresequenz SEQ. ID. NO. 2 oder eine von dieser Sequenz durch Substitution, Insertion oder Deletion von Aminosäuren abgeleitete Sequenz, die eine Identität von mindestens 70 % auf Aminosäureebene mit der Sequenz SEQ. ID. NO. 2 aufweist.

10

Unter β -Cyclase-Aktivität wird die Enzymaktivität einer β -Cyclase verstanden.

Unter einer β -Cyclase wird ein Protein verstanden, das die enzymatische Aktivität aufweist, einen endständigen, linearen Rest von Lycopin in einen β -Ionon-Ring zu über-

15 führen.

Insbesondere wird unter einer β -Cyclase ein Protein verstanden, das die enzymatische Aktivität aufweist, γ -Carotin in β -Carotin umzuwandeln.

20 Dementsprechend wird unter β -Cyclase-Aktivität die in einer bestimmten Zeit durch das Protein β -Cyclase umgesetzte Menge γ -Carotin bzw. gebildete Menge β -Carotin verstanden.

Bei einer erhöhten β -Cyclase –Aktivität gegenüber dem Wildtyp wird somit im Vergleich

25 zum Wildtyp in einer bestimmten Zeit durch das Protein β -Cyclase die umgesetzte Menge an Lycopin bzw. γ -Carotin oder die gebildete Menge an γ -Carotin aus Lycopin bzw. die gebildete Menge an β -Carotin aus γ -Carotin erhöht.

30 Vorzugsweise beträgt diese Erhöhung der β -Cyclase–Aktivität mindestens 5 %, weiter bevorzugt mindestens 20 %, weiter bevorzugt mindestens 50 %, weiter bevorzugt mindestens 100 %, bevorzugter mindestens 300 %, noch bevorzugter mindestens 500 %, insbesondere mindestens 600 % der β -Cyclase–Aktivität des Wildtyps.

35 Die Bestimmung der β -Cyclase–Aktivität in erfindungsgemäßen genetisch veränderten Organismen und in Wildtyp- bzw. Referenzorganismen erfolgt vorzugsweise unter folgenden Bedingungen:

Die Aktivität der β -Cyclase wird nach Fraser und Sandmann (Biochem. Biophys. Res. Comm. 185(1) (1992) 9-15) *in vitro* bestimmt. Es werden zu einer bestimmten Menge

an Organismusextrakt Kaliumphosphat als Puffer (pH 7.6), Lycopin als Substrat, Stro-
maprotein von Paprika, NADP+, NADPH und ATP zugegeben.

- Besonders bevorzugt erfolgt die Bestimmung der β -Cyclase -Aktivität unter folgenden
5 Bedingungen nach Bouvier, d'Harlingue und Camara (Molecular Analysis of carotenoid
cyclae inhibition; Arch. Biochem. Biophys. 346(1) (1997) 53-64):

Der in-vitro Assay wird in einem Volumen von 250 μ l Volumen durchgeführt. Der An-
10 satz enthält 50 mM Kaliumphosphat (pH 7.6), unterschiedliche Mengen an Organis-
musextrakt, 20 nM Lycopin, 250 μ g an chromoplastidärem Stromaprotein aus Paprika,
0.2 mM NADP+, 0.2 mM NADPH und 1 mM ATP. NADP/NADPH und ATP werden in
15 10 ml Ethanol mit 1 mg Tween 80 unmittelbar vor der Zugabe zum Inkubationsmedium
gelöst. Nach einer Reaktionszeit von 60 Minuten bei 30°C wird die Reaktion durch Zu-
gabe von Chloroform/Methanol (2:1) beendet. Die in Chloroform extrahierten Reakti-
onsprodukte werden mittels HPLC analysiert.

Ein alternativer Assay mit radioaktivem Substrat ist beschrieben in Fraser und Sand-
mann (Biochem. Biophys. Res. Comm. 185(1) (1992) 9-15).

20 Die Erhöhung der β -Cyclase-Aktivität kann durch verschiedene Wege erfolgen, bei-
spielsweise durch Ausschalten von hemmenden Regulationsmechanismen
auf Expressions- und Proteinebene oder durch Erhöhung der Genexpression gegen-
über dem Wildtyp von Nukleinsäuren, kodierend eine β -Cyclase, enthaltend die Amino-
säuresequenz SEQ. ID. NO. 2 oder eine von dieser Sequenz durch Substitution, Inser-
25 tion oder Deletion von Aminosäuren abgeleitete Sequenz, die eine Identität von min-
destens 70 % auf Aminosäureebene mit der Sequenz SEQ. ID. NO. 2 aufweist.

Die Erhöhung der Genexpression der Nukleinsäuren, kodierend eine β -Cyclase, ge-
genüber dem Wildtyp kann ebenfalls durch verschiedene Wege erfolgen, beispielswei-
30 se durch Induzierung des β -Cyclase-Gens durch Aktivatoren oder durch Einbringen
von einer oder mehrerer β -Cyclase-Genkopien, also durch Einbringen mindestens ei-
ner Nukleinsäure, kodierend eine β -Cyclase, enthaltend die Aminosäuresequenz
SEQ. ID. NO. 2 oder eine von dieser Sequenz durch Substitution, Insertion oder Dele-
35 tion von Aminosäuren abgeleitete Sequenz, die eine Identität von mindestens 70 % auf
Aminosäureebene mit der Sequenz SEQ. ID. NO. 2 aufweist, in den Organismus.

Unter Erhöhung der Genexpression einer Nukleinsäure, kodierend eine β -Cyclase, wird
erfindungsgemäß auch die Manipulation der Expression der Organismus eigenen en-
dogenen β -Cyclase, enthaltend die Aminosäuresequenz SEQ. ID. NO. 2 oder eine von
40 dieser Sequenz durch Substitution, Insertion oder Deletion von Aminosäuren abgeleite-

te Sequenz, die eine Identität von mindestens 70 % auf Aminosäureebene mit der Sequenz SEQ. ID. NO. 2 aufweist, verstanden.

Dies kann beispielsweise durch Veränderung der Promotor DNA-Sequenz für β-

- 5 Cyclasen kodierende Gene erreicht werden. Eine solche Veränderung, die eine erhöhte Expressionsrate des Gens zur Folge hat, kann beispielsweise durch Deletion oder Insertion von DNA Sequenzen erfolgen.

Es ist, wie vorstehend beschrieben, möglich, die Expression der endogenen β-Cyclase
10 durch die Applikation exogener Stimuli zu verändern. Dies kann durch besondere physiologische Bedingungen, also durch die Applikation von Fremdsubstanzen erfolgen.

Des weiteren kann eine veränderte bzw. erhöhte Expression eines endogenen β-Cyclase-Gens dadurch erzielt werden, dass ein im nicht transformierten Organismus
15 nicht vorkommendes Regulator-Protein mit dem Promotor dieses Gens in Wechselwirkung tritt.

Solch ein Regulator kann ein chimäres Protein darstellen, welches aus einer DNA-Bindedomäne und einer Transkriptionsaktivator-Domäne besteht, wie beispielsweise in
20 WO 96/06166 beschrieben.

In einer bevorzugten Ausführungsform erfolgt die Erhöhung der Genexpression einer Nukleinsäure, kodierend eine β-Cyclase, durch Einbringen in den Organismus von mindestens einer Nukleinsäure, kodierend eine β-Cyclase, enthaltend die Aminosäure-
25 sequenz SEQ. ID. NO. 2 oder eine von dieser Sequenz durch Substitution, Insertion oder Deletion von Aminosäuren abgeleitete Sequenz, die eine Identität von mindestens 70 % auf Aminosäureebene mit der Sequenz SEQ. ID. NO. 2 aufweist.

In den erfindungsgemäßen transgenen Organismen liegt also in dieser Ausführungsform gegenüber dem Wildtyp mindestens ein weiteres β-Cyclase-Gen vor. In dieser Ausführungsform weist der erfindungsgemäße genetisch veränderte Organismus vorzugsweise mindestens eine exogene (=heterologe) Nukleinsäure, kodierend eine β-Cyclase, auf oder mindestens zwei endogene Nukleinsäuren, kodierend eine β-Cyclase, auf.

35 In einer anderen, bevorzugten Ausführungsform des erfindungsgemäßen Verfahrens werden als Ausgangsorganismen nicht-humane Organismen verwendet, die als Wildtyp keine β-Cyclase-Aktivität aufweisen. In dieser, weniger bevorzugten Ausführungsform verursacht die genetische Veränderung die β-Cyclase -Aktivität in den Organismen. Der erfindungsgemäße genetisch veränderte Organismus weist somit in dieser,
40

Ausführungsform im Vergleich zum genetisch nicht veränderten Wildtyp eine β -Cyclase-Aktivität auf und ist somit vorzugsweise in der Lage, transgen eine β -Cyclase zu exprimieren.

- 5 In dieser bevorzugten Ausführungsform erfolgt die Verursachung der Genexpression einer Nukleinsäure kodierend eine β -Cyclase analog zu der vorstehend beschriebenen Erhöhung der Genexpression einer Nukleinsäure kodierend eine β -Cyclase vorzugsweise durch Einbringen von Nukleinsäuren, die β -Cyclase kodieren in den Ausgangsorganismus.

10 Dazu kann in beiden Ausführungsformen prinzipiell jedes β -Cyclase-Gen, also jede Nukleinsäure, die eine β -Cyclase kodiert, enthaltend die Aminosäuresequenz SEQ. ID. NO. 2 oder eine von dieser Sequenz durch Substitution, Insertion oder Deletion von Aminosäuren abgeleitete Sequenz, die eine Identität von mindestens 70 % auf Aminosäureebene mit der Sequenz SEQ. ID. NO. 2 aufweist, verwendet werden.

15 Bei genomischen β -Cyclase-Nukleinsäure-Sequenzen aus eukaryotischen Quellen, die Introns enthalten, sind für den Fall, dass der Wirtsorganismus nicht in der Lage ist oder nicht in die Lage versetzt werden kann, die entsprechende β -Cyclase zu exprimieren, bevorzugt bereits prozessierte Nukleinsäuresequenzen, wie die entsprechenden cDNAs, zu verwenden.

Eine besonders bevorzugte β -Cyclase ist die chromoplastenspezifische β -Cyclase aus Tomate (AAG21133) (Nukleinsäure: SEQ ID No. 1; Protein: SEQ ID No. 2).

20 25 Die erfindungsgemäße verwendbaren β -Cyclase-Gene sind Nukleinsäuren, die Proteine kodieren, enthaltend die Aminosäuresequenz SEQ ID NO: 2 oder eine von dieser Sequenz durch Substitution, Insertion oder Deletion von Aminosäuren abgeleitete Sequenz, die eine Identität von mindestens 70 %, vorzugsweise mindestens 80 %, bevorzugter mindestens 85 %, noch bevorzugter mindestens 90 %, am bevorzugtesten mindestens 95 % auf Aminosäureebene mit der Sequenz SEQ ID NO: 2, und die die enzymatische Eigenschaft einer β -Cyclase aufweisen.

30 35 Weitere Beispiele für β -Cyclasen und β -Cyclase-Gene lassen sich beispielsweise aus verschiedenen Organismen, deren genomische Sequenz bekannt ist, wie vorstehend beschrieben durch Homologievergleiche der Aminosäuresequenzen oder der entsprechenden rückübersetzten Nukleinsäuresequenzen aus Datenbanken mit der SEQ ID NO: 2 leicht auffinden.

Weitere Beispiele für β -Cyclasen und β -Cyclase-Gene lassen sich weiterhin beispielsweise ausgehend von der Sequenz SEQ ID NO: 1 aus verschiedenen Organismen deren genomische Sequenz nicht bekannt ist, durch Hybridisierungs- und PCR-Techniken in an sich bekannter Weise leicht auffinden.

5

In einer weiter besonders bevorzugten Ausführungsform werden zur Erhöhung der β -Cyclase-Aktivität Nukleinsäuren in Organismen eingebracht, die Proteine kodieren, enthaltend die Aminosäuresequenz der β -Cyclase der Sequenz SEQ ID NO: 2.

10 Geeignete Nukleinsäuresequenzen sind beispielsweise durch Rückübersetzung der Polypeptidsequenz gemäß dem genetischen Code erhältlich.

15 Bevorzugt werden dafür solche Codons verwendet, die entsprechend der organismus-spezifischen codon usage häufig verwendet werden. Die codon usage lässt sich anhand von Computerauswertungen anderer, bekannter Gene der betreffenden Organismen leicht ermitteln.

20 In einer besonders bevorzugten Ausführungsform bringt man eine Nukleinsäure, enthaltend die Sequenz SEQ ID NO: 1 in den Organismus ein.

20

Alle vorstehend erwähnten β -Cyclase-Gene sind weiterhin in an sich bekannter Weise durch chemische Synthese aus den Nukleotidbausteinen wie beispielsweise durch Fragmentkondensation einzelner überlappender, komplementärer Nukleinsäurebausteine der Doppelhelix herstellbar. Die chemische Synthese von Oligonukleotiden kann beispielsweise, in bekannter Weise, nach der Phosphoamiditmethode (Voet, Voet, 2. Auflage, Wiley Press New York, Seite 896-897) erfolgen. Die Anlagerung synthetischer Oligonukleotide und Auffüllen von Lücken mithilfe des Klenow-Fragmentes der DNA-Polymerase und Ligationsreaktionen sowie allgemeine Klonierungsverfahren werden in Sambrook et al. (1989), Molecular cloning: A laboratory manual, Cold Spring Harbor 30 Laboratory Press, beschrieben.

35 In einer bevorzugten Ausführungsform werden nicht-humane Organismen kultiviert, die gegenüber dem Wildtyp zusätzlich zur veränderten Ketolase-Aktivität und veränderten β -Cyclase-Aktivität eine veränderte Hydroxylase-Aktivität aufweisen.

35

Unter einer „im Vergleich zum Wildtyp veränderten Hydroxylase-Aktivität“ wird für den Fall, dass der Ausgangsorganismus oder Wildtyp keine Hydroxylase-Aktivität aufweist, vorzugsweise eine „im Vergleich zum Wildtyp verursachte Hydroxylase-Aktivität“ verstanden.

40

Unter einer „im Vergleich zum Wildtyp veränderten Hydroxylase-Aktivität“ wird für den Fall, dass der Ausgangsorganismus oder Wildtyp eine Hydroxylase-Aktivität aufweist, vorzugsweise eine „im Vergleich zum Wildtyp erhöhte Hydroxylase-Aktivität“ verstanden.

5

Dementsprechend werden in einer bevorzugten Ausführungsform nicht-humane Organismen kultiviert, die gegenüber dem Wildtyp zusätzlich zur veränderten Ketolase-Aktivität und veränderten β -Cyclase-Aktivität eine verursachte oder erhöhte Hydroxylase-Aktivität aufweisen.

10

Unter Hydroxylase-Aktivität wird die Enzymaktivität einer Hydroxylase verstanden.

Unter einer Hydroxylase wird ein Protein verstanden, das die enzymatische Aktivität aufweist; am, gegebenenfalls substituierten, β -Ionon-Ring von Carotinoiden eine

15

Hydroxy-Gruppe einzuführen.

Insbesondere wird unter einer Hydroxylase ein Protein verstanden, das die enzymatische Aktivität aufweist, β -Carotin in Zeaxanthin oder Canthaxanthin in Astaxanthin umzuwandeln.

20

Dementsprechend wird unter Hydroxylase-Aktivität die in einer bestimmten Zeit durch das Protein Hydroxylase umgesetzte Menge β -Carotin oder Canthaxanthin bzw. gebildete Menge Zeaxanthin oder Astaxanthin verstanden.

25

Bei einer erhöhten Hydroxylase-Aktivität gegenüber dem Wildtyp wird somit im Vergleich zum Wildtyp in einer bestimmten Zeit durch das Protein Hydroxylase die umgesetzte Menge β -Carotin oder Canthaxanthin bzw. die gebildete Menge Zeaxanthin oder Astaxanthin erhöht.

30

Vorzugsweise beträgt diese Erhöhung der Hydroxylase-Aktivität mindestens 5 %, weiter bevorzugt mindestens 20 %, weiter bevorzugt mindestens 50 %, weiter bevorzugt mindestens 100 %, bevorzugter mindestens 300 %, noch bevorzugter mindestens 500 %, insbesondere mindestens 600 % der Hydroxylase-Aktivität des Wildtyps.

35

Die Bestimmung der Hydroxylase-Aktivität in erfindungsgemäßen genetisch veränderten Organismus und in Wildtyp- bzw. Referenzorganismen erfolgt vorzugsweise unter folgenden Bedingungen:

Die Aktivität der Hydroxylase wird nach Bouvier et al. (Biochim. Biophys. Acta 1391

40

(1998), 320-328) *in vitro* bestimmt. Es wird zu einer bestimmten Menge an Organis-

museextrakt Ferredoxin, Ferredoxin-NADP Oxidoreductase, Katalase, NADPH sowie beta-Carotin mit Mono- und Digalaktosylglyzeriden zugegeben.

Besonders bevorzugt erfolgt die Bestimmung der Hydroxylase-Aktivität unter folgenden Bedingungen nach Bouvier, Keller, d'Harlingue und Camara (Xanthophyll bio-synthesis: molecular and functional characterization of carotenoid hydroxylases from pepper fruits (*Capsicum annuum* L.); *Biochim. Biophys. Acta* 1391 (1998), 320-328):

Der in-vitro Assay wird in einem Volumen von 0.250 ml Volumen durchgeführt. Der
10 Ansatz enthält 50 mM Kaliumphosphat (pH 7.6), 0.025 mg Ferredoxin von Spinat, 0.5 Einheiten Ferredoxin-NADP+ Oxidoreduktase von Spinat, 0.25 mM NADPH, 0.010 mg beta-Carotin (in 0.1 mg Tween 80 emulgiert), 0.05 mM einer Mischung von Mono- und Digalaktosylglyzeriden (1:1), 1 Einheit Katalyse, , 0.2 mg Rinderserumalbumin und Organismusextrakt in unterschiedlichem Volumen. Die Reaktionsmischung wird 2
15 Stunden bei 30°C inkubiert. Die Reaktionsprodukte werden mit organischem Lösungsmittel wie Aceton oder Chloroform/Methanol (2:1) extrahiert und mittels HPLC bestimmt.

Die Erhöhung oder Verursachung der Hydroxylase-Aktivität kann durch verschiedene
20 Wege erfolgen, beispielsweise durch Ausschalten von hemmenden Regulationsmechanismen auf Expressions- und Proteinebene oder durch Erhöhung oder Verursachung der Genexpression von Nukleinsäuren kodierend eine Hydroxylase gegenüber dem Wildtyp.

25 Die Erhöhung oder Verursachung der Genexpression der Nukleinsäuren kodierend eine Hydroxylase gegenüber dem Wildtyp kann ebenfalls durch verschiedene Wege erfolgen, beispielsweise durch Induzierung des Hydroxylase-Gens, durch Aktivatoren oder durch Einbringen von einer oder mehrerer Hydroxylase-Genkopien, also durch Einbringen mindestens einer Nukleinsäure kodierend eine Hydroxylase in den Organismus.
30

Unter Erhöhung der Genexpression einer Nukleinsäure kodierend eine Hydroxylase wird erfindungsgemäß auch die Manipulation der Expression der Organismus eigenen, endogenen Hydroxylase verstanden.

35 Dies kann beispielsweise durch Veränderung der Promotor DNA-Sequenz für Hydroxylasen kodierende Gene erreicht werden. Eine solche Veränderung, die eine erhöhte Expressionsrate des Gens zur Folge hat, kann beispielsweise durch Deletion oder Insertion von DNA Sequenzen erfolgen.

Es ist, wie vorstehend beschrieben, möglich, die Expression der endogenen Hydroxylase durch die Applikation exogener Stimuli zu verändern. Dies kann durch besondere physiologische Bedingungen, also durch die Applikation von Fremdstoffen erfolgen.

5

Des weiteren kann eine verursachte oder erhöhte Expression eines endogenen Hydroxylase-Gens dadurch erzielt werden, dass ein in dem nicht transformierten Organismus nicht vorkommendes Regulator-Protein mit dem Promotor dieses Gens in Wechselwirkung tritt.

10

Solch ein Regulator kann ein chimäres Protein darstellen, welches aus einer DNA-Bindedomäne und einer Transkriptionsaktivator-Domäne besteht, wie beispielsweise in WO 96/06166 beschrieben.

15

In einer bevorzugten Ausführungsform erfolgt die Erhöhung oder Verursachung der Genexpression einer Nukleinsäure kodierend eine Hydroxylase durch Einbringen von mindestens einer Nukleinsäure kodierend eine Hydroxylase in den Organismus.

20

Dazu kann prinzipiell jedes Hydroxylase-Gen, also jede Nukleinsäure, die eine Hydroxylase kodiert, verwendet werden.

Bei genomischen Hydroxylase-Sequenzen aus eukaryontischen Quellen, die Introns enthalten, sind für den Fall das die Wirtspflanze nicht in der Lage ist oder nicht in die Lage versetzt werden kann, die entsprechende Hydroxylase zu exprimieren, bevorzugt

25

bereits prozessierte Nukleinsäuresequenzen, wie die entsprechenden cDNAs zu verwenden.

Beispiele für ein Hydroxylase-Gene sind:

30

eine Nukleinsäure, kodierend eine Hydroxylase aus *Haematococcus pluvialis*, Accession AX038729, WO 0061764); (Nukleinsäure: SEQ ID NO: 77, Protein: SEQ ID NO: 78),

sowie Hydroxylasen der folgenden Accession Nummern:

35

Jemb|CAB55626.1, CAA70427.1, CAA70888.1; CAB55625.1, AF499108_1, AF315289_1, AF296158_1, AAC49443.1, NP_194300.1, NP_200070.1, AAG10430.1, CAC06712.1, AAM88619.1, CAC95130.1, AAL80006.1, AF162276_1, AAO53295.1, AAN85601.1, CRTZ_ERWHE, CRTZ_PANAN, BAB79605.1, CRTZ_ALCSP, 40 CRTZ_AGRAU, CAB56060.1, ZP_00094836.1, AAC44852.1, BAC77670.1,

NP_745389.1, NP_344225.1, NP_849490.1, ZP_00087019.1, NP_503072.1,
NP_852012.1, NP_115929.1, ZP_00013255.1

- 5 Eine besonders bevorzugte Hydroxylase ist weiterhin die Hydroxylase aus Tomate
(Accession Y14810) (Nukleinsäure: SEQ ID NO: 5; Protein: SEQ ID NO. 6).

10 In den erfindungsgemäßen bevorzugten transgenen Organismen liegt also in dieser bevorzugten Ausführungsform gegenüber dem Wildtyp mindestens ein weiteres Hydroxylase-Gen vor.

15 In dieser bevorzugten Ausführungsform weist der genetisch veränderte Organismus beispielsweise mindestens eine exogene Nukleinsäure, kodierend eine Hydroxylase oder mindestens zwei endogene Nukleinsäuren, kodierend eine Hydroxylase auf.

20 Bevorzugt verwendet man in vorstehend beschriebener bevorzugter Ausführungsform als Hydroxylase-Gene Nukleinsäuren, die Proteine kodieren, enthaltend die Aminosäuresequenz SEQ ID NO: 6 oder eine von dieser Sequenz durch Substitution, Insertion oder Deletion von Aminosäuren abgeleitete Sequenz, die eine Identität von mindestens 20 %, vorzugsweise mindestens 80 %, bevorzugter mindestens 85%, noch bevorzugter mindestens 90 %, am bevorzugtesten mindestens 95 % auf Aminosäureebene mit der Sequenz SEQ ID NO: 6, und die die enzymatische Eigenschaft einer Hydroxylase aufweisen.

25 Weitere Beispiele für Hydroxylasen und Hydroxylase-Gene lassen sich beispielsweise aus verschiedenen Organismen, deren genomische Sequenz bekannt ist, wie vorstehend beschrieben, durch Homologievergleiche der Aminosäuresequenzen oder der entsprechenden rückübersetzten Nukleinsäuresequenzen aus Datenbanken mit der Seq ID NO: 6 leicht auffinden.

30 Weitere Beispiele für Hydroxylasen und Hydroxylase-Gene lassen sich weiterhin beispielsweise ausgehend von der Sequenz SEQ ID NO: 5 aus verschiedenen Organismen deren genomische Sequenz nicht bekannt ist, wie vorstehend beschrieben, durch Hybridisierungs- und PCR-Techniken in an sich bekannter Weise leicht auffinden.

35 In einer weiter besonders bevorzugten Ausführungsform werden zur Erhöhung der Hydroxylase-Aktivität Nukleinsäuren in Organismen eingebracht, die Proteine kodieren, enthaltend die Aminosäuresequenz der Hydroxylase der Sequenz SEQ ID NO: 6.

Geeignete Nukleinsäuresequenzen sind beispielsweise durch Rückübersetzung der Polypeptidsequenz gemäß dem genetischen Code erhältlich.

Bevorzugt werden dafür solche Codons verwendet, die entsprechend der organismus-
5 spezifischen codon usage häufig verwendet werden. Die codon usage lässt sich an-
hand von Computerauswertungen anderer, bekannter Gene der betreffenden Orga-
nismen leicht ermitteln.

In einer besonders bevorzugten Ausführungsform bringt man eine Nukleinsäure, ent-
10 haltend die Sequenz SEQ ID NO: 5 in den Organismus ein.

Alle vorstehend erwähnten Hydroxylase-Gene sind weiterhin in an sich bekannter Wei-
se durch chemische Synthese aus den Nukleotidbausteinen wie beispielsweise durch
Fragmentkondensation einzelner überlappender, komplementärer Nukleinsäurebau-
15 steine der Doppelhelix herstellbar. Die chemische Synthese von Oligonukleotiden kann
beispielsweise, in bekannter Weise, nach der Phosphoamiditmethode (Voet, Voet, 2.
Auflage, Wiley Press New York, Seite 896-897) erfolgen. Die Anlagerung synthetischer
Oligonukleotide und Auffüllen von Lücken mithilfe des Klenow-Fragmentes der DNA-
Polymerase und Ligationsreaktionen sowie allgemeine Klonierungsverfahren werden in
20 Sambrook et al. (1989), Molecular cloning: A laboratory manual, Cold Spring Harbor
Laboratory Press, beschrieben.

Besonders bevorzugt werden im erfindungsgemäßen Verfahren genetisch veränderte
nicht-humane Organismen eingesetzt, die als Ausgangsorganismen eine β-Cyclase-
25 Aktivität und keine Ketolase-Aktivität aufweisen, wobei die genetisch veränderten Or-
ganismen im Vergleich zum Wildtyp eine erhöhte β-Cyclase-Aktivität, verursacht durch
eine β-Cyclase, enthaltend die Aminosäuresequenz SEQ. ID. NO. 2 oder eine von die-
ser Sequenz durch Substitution, Insertion oder Deletion von Aminosäuren abgeleitete
Sequenz, die eine Identität von mindestens 70 % auf Aminosäureebene mit der Se-
30 quenz SEQ. ID. NO. 2 aufweist und eine verursachte Ketolase-Aktivität aufweisen.

Besonders bevorzugt werden im erfindungsgemäßen Verfahren weiterhin genetisch
veränderte nicht-humane Organismen eingesetzt, die als Ausgangsorganismen keine
β-Cyclase-Aktivität und keine Ketolase-Aktivität aufweisen, wobei die genetisch verän-
35 derten Organismen im Vergleich zum Wildtyp eine verursachte β-Cyclase-Aktivität,
verursacht durch eine β-Cyclase, enthaltend die Aminosäuresequenz SEQ. ID. NO. 2
oder eine von dieser Sequenz durch Substitution, Insertion oder Deletion von Amino-
säuren abgeleitete Sequenz, die eine Identität von mindestens 70 % auf Aminosäure-
ebene mit der Sequenz SEQ. ID. NO. 2 aufweist und eine verursachte Ketolase-

Aktivität aufweisen.

Besonders bevorzugt werden im erfindungsgemäßen Verfahren weiterhin genetisch veränderte nicht-humane Organismen eingesetzt, die als Ausgangsorganismen eine β-Cyclase-Aktivität und eine Ketolase-Aktivität aufweisen, wobei die genetisch veränderten Organismen im Vergleich zum Wildtyp eine erhöhte β-Cyclase-Aktivität, verursacht durch eine β-Cyclase, enthaltend die Aminosäuresequenz SEQ. ID. NO. 2 oder eine von dieser Sequenz durch Substitution, Insertion oder Deletion von Aminosäuren abgeleitete Sequenz, die eine Identität von mindestens 70 % auf Aminosäureebene mit der Sequenz SEQ. ID. NO. 2 aufweist und eine erhöhte Ketolase-Aktivität aufweisen.

Besonders bevorzugt werden im erfindungsgemäßen Verfahren genetisch veränderte nicht-humane Organismen eingesetzt, die als Ausgangsorganismen eine β-Cyclase-Aktivität, keine Ketolase-Aktivität und keine Hydroxylase-Aktivität aufweisen, wobei die genetisch veränderten Organismen im Vergleich zum Wildtyp eine erhöhte β-Cyclase-Aktivität, verursacht durch eine β-Cyclase, enthaltend die Aminosäuresequenz SEQ. ID. NO. 2 oder eine von dieser Sequenz durch Substitution, Insertion oder Deletion von Aminosäuren abgeleitete Sequenz, die eine Identität von mindestens 70 % auf Aminosäureebene mit der Sequenz SEQ. ID. NO. 2 aufweist, eine verursachte Ketolase-Aktivität und eine verursachte Hydroxylase-Aktivität aufweisen.

Besonders bevorzugt werden im erfindungsgemäßen Verfahren genetisch veränderte nicht-humane Organismen eingesetzt, die als Ausgangsorganismen eine β-Cyclase-Aktivität, eine Hydroxylase-Aktivität und keine Ketolase-Aktivität aufweisen, wobei die genetisch veränderten Organismen im Vergleich zum Wildtyp eine erhöhte β-Cyclase-Aktivität, verursacht durch eine β-Cyclase, enthaltend die Aminosäuresequenz SEQ. ID. NO. 2 oder eine von dieser Sequenz durch Substitution, Insertion oder Deletion von Aminosäuren abgeleitete Sequenz, die eine Identität von mindestens 70 % auf Aminosäureebene mit der Sequenz SEQ. ID. NO. 2 aufweist, eine erhöhte Hydroxylase-Aktivität und eine verursachte Ketolase-Aktivität aufweisen.

Besonders bevorzugt werden im erfindungsgemäßen Verfahren weiterhin genetisch veränderte, nicht-humane Organismen eingesetzt, die als Ausgangsorganismen keine β-Cyclase-Aktivität, keine Hydroxylase-Aktivität und keine Ketolase-Aktivität aufweisen, wobei die genetisch veränderten Organismen im Vergleich zum Wildtyp eine verursachte β-Cyclase-Aktivität, verursacht durch eine β-Cyclase, enthaltend die Aminosäuresequenz SEQ. ID. NO. 2 oder eine von dieser Sequenz durch Substitution, Insertion oder Deletion von Aminosäuren abgeleitete Sequenz, die eine Identität von mindestens 70 % auf Aminosäureebene mit der Sequenz SEQ. ID. NO. 2 aufweist, eine verursachte Hydroxylase-Aktivität und eine verursachte Ketolase-Aktivität

te Hydroxylase-Aktivität und eine verursachte Ketolase-Aktivität aufweisen.

Besonders bevorzugt werden im erfindungsgemäßen Verfahren weiterhin genetisch veränderte nicht-humane Organismen eingesetzt, die als Ausgangsorganismen eine β -

- 5 Cyclase-Aktivität, eine Hydroxylase-Aktivität und eine Ketolase-Aktivität aufweisen, wobei die genetisch veränderten Organismen im Vergleich zum Wildtyp eine erhöhte β -Cyclase-Aktivität, verursacht durch eine β -Cyclase, enthaltend die Aminosäuresequenz SEQ. ID: NO. 2 oder eine von dieser Sequenz durch Substitution, Insertion oder Deletion von Aminosäuren abgeleitete Sequenz, die eine Identität von mindestens 70 % auf
10 Aminosäureebene mit der Sequenz SEQ. ID. NO. 2 aufweist, eine erhöhte β -Cyclase-Aktivität eine erhöhte Hydroxylase-Aktivität und eine erhöhte Ketolase-Aktivität aufweisen.

In einer weiter bevorzugten Ausführungsform werden genetisch veränderte, nicht-

- 15 humane Organismen kultiviert, die zusätzlich gegenüber dem Wildtyp eine erhöhte Aktivität mindestens einer der Aktivitäten, ausgewählt aus der Gruppe HMG-CoA-Reduktase-Aktivität, (E)-4-Hydroxy-3-Methylbut-2-enyl-Diphosphat-Reduktase-Aktivität, 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Synthase-Aktivität, 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Reduktoisomerase-Aktivität, Isopentenyl-Diphosphat- Δ -Isomerase-Aktivität, Geranyl-
20 Diphosphat-Synthase-Aktivität, Farnesyl-Diphosphat-Synthase-Aktivität, Geranyl-Geranyl-Diphosphat-Synthase-Aktivität, Phytoen-Synthase-Aktivität, Phytoen-Desaturase-Aktivität, Zeta-Carotin-Desaturase-Aktivität, crtISO-Aktivität, FtsZ-Aktivität und MinD-Aktivität aufweisen.

- 25 Unter HMG-CoA-Reduktase-Aktivität wird die Enzymaktivität einer HMG-CoA-Reduktase (3-Hydroxy-3-Methyl-Glutaryl-Coenzym-A-Reduktase) verstanden.

Unter einer HMG-CoA-Reduktase wird ein Protein verstanden, das die enzymatische Aktivität aufweist, 3-Hydroxy-3-Methyl-Glutaryl-Coenzym-A in Mevalonat umzuwandeln.

Dementsprechend wird unter HMG-CoA-Reduktase-Aktivität die in einer bestimmten Zeit durch das Protein HMG-CoA-Reduktase umgesetzte Menge 3-Hydroxy-3-Methyl-Glutaryl-Coenzym-A bzw. gebildete Menge Mevalonat verstanden.

- 35 Bei einer erhöhten HMG-CoA-Reduktase-Aktivität gegenüber dem Wildtyp wird somit im Vergleich zum Wildtyp in einer bestimmten Zeit durch das Protein HMG-CoA-Reduktase die umgesetzte Menge 3-Hydroxy-3-Methyl-Glutaryl-Coenzym-A bzw. die gebildete Menge Mevalonat erhöht.

Vorzugsweise beträgt diese Erhöhung der HMG-CoA-Reduktase-Aktivität mindestens 5 %, weiter bevorzugt mindestens 20 %, weiter bevorzugt mindestens 50 %, weiter bevorzugt mindestens 100 %, bevorzugter mindestens 300 %, noch bevorzugter mindestens 500 %, insbesondere mindestens 600 % der HMG-CoA-Reduktase-Aktivität des Wildtyps.

Die Bestimmung der HMG-CoA-Reduktase-Aktivität in erfindungsgemäßen genetisch veränderten Organismus und in Wildtyp- bzw. Referenzorganismen erfolgt vorzugsweise unter folgenden Bedingungen:

- 10 Eingefrorenes Organismenmaterial wird durch intensives Mösern in flüssigem Stickstoff homogenisiert und mit Extraktionspuffer in einem Verhältnis von 1:1 bis 1:20 extrahiert. Das jeweilige Verhältnis richtet sich nach den Enzymaktivitäten in dem verfügbaren Organismenmaterial, so dass eine Bestimmung und Quantifizierung der Enzymaktivitäten innerhalb des linearen Messbereiches möglich ist. Typischerweise kann der Extraktionspuffer bestehen aus 50 mM HEPES-KOH (pH 7.4), 10 mM MgCl₂, 10 mM KCl, 1 mM EDTA, 1 mM EGTA, 0.1% (v/v) Triton X-100, 2 mM ε-Aminocapronsäure, 10% Glyzerin, 5 mM KHCO₃. Kurz vor der Extraktion wird 2 mM DTT und 0.5 mM PMSF zugegeben.
- 20 Die Aktivität der HMG-CoA-Reduktase kann nach veröffentlichten Beschreibungen gemessen werden (z.B. Schaller, Grausem, Benveniste, Chye, Tan, Song und Chua, Plant Physiol. 109 (1995), 761-770; Chappell, Wolf, Proulx, Cuellar und Saunders, Plant Physiol. 109 (1995) 1337-1343). Organismengewebe kann in kaltem Puffer (100 mM Kaliumphosphat (pH 7.0), 4 mM MgCl₂, 5 mM DTT) homogenisiert und extrahiert werden. Das Homogenisat wird 15 Minuten lang bei 10.000g bei 4C zentrifugiert. Der Überstand wird danach bei 100.000g für 45-60 Minuten nochmals zentrifugiert. Die Aktivität der HMG-CoA-Reduktase wird im Überstand und im Pellet der mikrosomalen Fraktion (nach dem Resuspendieren in 100 mM Kaliumphosphat (pH 7.0) und 50 mM DTT) bestimmt. Aliquots der Lösung und der Suspension (der Proteingehalt der Suspension entspricht etwa 1-10 µg) werden in 100 mM Kaliumphosphat-Puffer (pH 7,0 mit 3 mM NADPH und 20 µM (¹⁴C)HMG-CoA (58 µCi/µM) idealerweise in einem Volumen von 26 µl für 15-60 Minuten bei 30C inkubiert. Die Reaktion wird terminiert durch die Zugabe von 5 µl Mevalonatlacton (1 mg/ml) und 6 N HCl. Nach Zugabe wird die 30 Mischung bei Raumtemperatur 15 Minuten inkubiert. Das in der Reaktion gebildete (¹⁴C)-Mevalonat wird quantifiziert, indem 125 µl einer gesättigten Kaliumphosphat-Lösung (pH 6.0) und 300 µl Ethylacetat zugegeben werden. Die Mischung wird gut vermischt und zentrifugiert. Mittels Szintillationsmessung kann die Radioaktivität bestimmt werden.
- 35 40

Unter (E)-4-Hydroxy-3-Methylbut-2-enyl-Diphosphat-Reduktase-Aktivität, auch lytB oder lspH bezeichnet, wird die Enzymaktivität einer (E)-4-Hydroxy-3-Methylbut-2-enyl-Diphosphat-Reduktase verstanden.

- 5 Unter einer (E)-4-Hydroxy-3-Methylbut-2-enyl-Diphosphat-Reduktase wird ein Protein verstanden, das die enzymatische Aktivität aufweist, (E)-4-Hydroxy-3-Methylbut-2-enyl-Diphosphat in Isopentenyldiphosphat und Dimethylallyldiphosphate umzuwandeln.
- Dementsprechend wird unter (E)-4-Hydroxy-3-Methylbut-2-enyl-Diphosphat-
- 10 Reduktase-Aktivität die in einer bestimmten Zeit durch das Protein (E)-4-Hydroxy-3-Methylbut-2-enyl-Diphosphat-Reduktase umgesetzte Menge (E)-4-Hydroxy-3-Methylbut-2-enyl-Diphosphat bzw. gebildete Menge Isopentenyldiphosphat und/oder Dimethylallyldiphosphat verstanden.
- 15 Bei einer erhöhten (E)-4-Hydroxy-3-Methylbut-2-enyl-Diphosphat-Reduktase -Aktivität gegenüber dem Wildtyp wird somit im Vergleich zum Wildtyp in einer bestimmten Zeit durch das Protein (E)-4-Hydroxy-3-Methylbut-2-enyl-Diphosphat-Reduktase die umgesetzte Menge (E)-4-Hydroxy-3-Methylbut-2-enyl-Diphosphat bzw. die gebildete Menge Isopentenyldiphosphat und/oder Dimethylallyldiphosphat erhöht.
- 20 Vorzugsweise beträgt diese Erhöhung der (E)-4-Hydroxy-3-Methylbut-2-enyl-Diphosphat-Reduktase-Aktivität mindestens 5 %, weiter bevorzugt mindestens 20 %, weiter bevorzugt mindestens 50 %, weiter bevorzugt mindestens 100 %, bevorzugter mindestens 300 %, noch bevorzugter mindestens 500 %, insbesondere mindestens 25 600 % der (E)-4-Hydroxy-3-Methylbut-2-enyl-Diphosphat-Reduktase -Aktivität des Wildtyps.

Die Bestimmung der (E)-4-Hydroxy-3-Methylbut-2-enyl-Diphosphat-Reduktase-Aktivität in erfindungsgemäßen genetisch veränderten, nicht-humanen Organismen und in Wildtyp- bzw. Referenzorganismen erfolgt vorzugsweise unter folgenden Bedingungen:

Eingefrorenes Organismenmaterial wird durch intensives Mösern in flüssigem Stickstoff homogenisiert und mit Extraktionspuffer in einem Verhältnis von 1:1 bis 1:20 extrahiert.

35 Das jeweilige Verhältnis richtet sich nach den Enzymaktivitäten in dem verfügbaren Organismenmaterial, sodaß eine Bestimmung und Quantifizierung der Enzymaktivitäten innerhalb des linearen Messbereiches möglich ist. Typischerweise kann der Extraktionspuffer bestehen aus 50 mM HEPES-KOH (pH 7.4), 10 mM MgCl₂, 10 mM KCl, 1 mM EDTA, 1 mM EGTA, 0.1 % (v/v) Triton X-100, 2 mM ε-Aminocapronsäure, 10 % 40 Glyzerin, 5 mM KHCO₃. Kurz vor der Extraktion wird 2 mM DTT und 0,5 mM PMSF

zugegeben.

- Die Bestimmung der (E)-4-Hydroxy-3-Methylbut-2-enyl-Diphosphat-Reduktase-Aktivität kann über einen immunologischen Nachweis erbracht werden. Die Herstellung spezifischer Antikörper ist durch Rohdich und Kollegen (Rohdich, Hecht, Gärtner, Adam, Krieger, Amslinger, Arigoni, Bacher und Eisenreich: Studies on the nonmevalonate terpene biosynthetic pathway: metabolic role of IspH (LytB) protein, Natl. Acad. Natl. Sci. USA 99 (2002), 1158-1163) beschrieben worden. Zur Bestimmung der katalytischen Aktivität beschreiben Altincicek und Kollegen (Altincicek, Duin, Reichenberg, Hedderich, Kollas, Hintz, Wagner, Wiesner, Beck und Jomaa: LytB protein catalyzes the terminal step of the 2-C-methyl-D-erythritol-4-phosphate pathway of isoprenoid biosynthesis; FEBS Letters 532 (2002,) 437-440) ein in vitro-System, welches die Reduktion von (E)-4-hydroxy-3-methyl-but-2-enyl diphosphat in die Isopentenyl-diphosphat und Dimethylallyldiphosphat verfolgt.
- Unter 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Synthase-Aktivität wird die Enzymaktivität einer 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Synthase verstanden.
- Unter einer 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Synthase wird ein Protein verstanden, das die enzymatische Aktivität aufweist, Hydroxyethyl-ThPP und Glycerinaldehyd-3-Phosphat in 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat umzuwandeln.
- Dementsprechend wird unter 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Synthase -Aktivität die in einer bestimmten Zeit durch das Protein 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Synthase umgesetzte Menge Hydroxyethyl-ThPP und/oder Glycerinaldehyd-3-Phosphat bzw. gebildete Menge 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat verstanden.
- Bei einer erhöhten 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Synthase -Aktivität gegenüber dem Wildtyp wird somit im Vergleich zum Wildtyp in einer bestimmten Zeit durch das Protein 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Synthase die umgesetzte Menge Hydroxyethyl-ThPP und/oder Glycerinaldehyd-3-Phosphat bzw. die gebildete Menge -Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat erhöht.
- Vorzugsweise beträgt diese Erhöhung der 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Synthase -Aktivität mindestens 5 %, weiter bevorzugt mindestens 20 %, weiter bevorzugt mindestens 50 %, weiter bevorzugt mindestens 100 %, bevorzugter mindestens 300 %, noch bevorzugter mindestens 500 %, insbesondere mindestens 600 % der 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Synthase-Aktivität des Wildtyps.

Die Bestimmung der 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Synthase-Aktivität in erfindungs-gemäßen genetisch veränderten Organismen und in Wildtyp- bzw. Referenzorganis-men erfolgt vorzugsweise unter folgenden Bedingungen:

- 5 Eingefrorenes Organismenmaterial wird durch intensives Mörsern in flüssigem Stick-stoff homogenisiert und mit Extraktionspuffer in einem Verhältnis von 1:1 bis 1:20 ext-rahiert. Das jeweilige Verhältnis richtet sich nach den Enzymaktivitäten in dem verfügbaren Organismenmaterial, so dass eine Bestimmung und Quantifizierung der Enzym-aktivitäten innerhalb des linearen Messbereiches möglich ist. Typischerweise kann der
- 10 Extraktionspuffer bestehen aus 50 mM HEPES-KOH (pH 7.4), 10 mM MgCl₂, 10 mM KCl, 1 mM EDTA, 1 mM EGTA, 0,1 % (v/v) Triton X-100, 2 mM ε-Aminocapronsäure, 10 % Glyzerin, 5 mM KHCO₃. Kurz vor der Extraktion wird 2 mM DTT und 0,5 mM PMSF zugegeben.
- 15 Die Reaktionslösung (50-200 µl) für die Bestimmung der D-1-Deoxyxylulose-5-Phosphat-Synthase-Aktivität (DXS) besteht aus 100 mM Tris-HCl (pH 8.0), 3 mM MgCl₂, 3 mM MnCl₂, 3 mM ATP, 1 mM Thiamindiphosphat, 0,1% Tween-60, 1 mM Kaliumfluorid, 30 µM (2-¹⁴C)-Pyruvat (0.5 µCi), 0,6 mM DL-Glyeraldehyd-3-phosphat. Der Organismenextrakt wird 1 bis 2 Stunden in der Reaktionslösung bei 37C inkubiert.
- 20 Danach wird die Reaktion durch Erhitzen auf 80C für 3 Minuten gestoppt. Nach Zentrifugation bei 13.000 Umdrehungen/Minute für 5 Minuten wird der Überstand evaporiert, der Rest in 50 µl Methanol resuspendiert, auf eine TLC-Platte für Dünnschichtchromatographie (Silica-Gel 60, Merck, Darmstadt) aufgetragen und in N-Propylalkohol/Ethylacetat/Wasser (6:1:3; v/v/v) aufgetrennt. Dabei trennt sich radioaktiv
- 25 markiertes D-1-deoxyxylulose-5-phosphat (oder D-1-deoxyxylulose) von (2-¹⁴C)-Pyruvat. Die Quantifizierung erfolgt mittels Scintillationszähler. Die Methode wurde beschrieben in Harker und Bramley (FEBS Letters 448 (1999) 115-119). Alternativ wurde ein fluorometrischer Assay zur Bestimmung der DXS-Synthaseaktivität von Querol und Kollegen beschrieben (Analytical Biochemistry 296 (2001) 101-105).
- 30 Unter 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Reduktoisomerase-Aktivität wird die Enzymaktivität einer 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Reduktoisomerase, auch 1-Deoxy-D-Xylulose-5-Phosphat-Reduktoisomerase genannt, verstanden.
- 35 Unter einer 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Reduktoisomerase wird ein Protein ver-standen, das die enzymatische Aktivität aufweist, 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat in 2-C-methyl-D-erythritol 4-Phosphat umzuwandeln.
- 40 Dementsprechend wird unter 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Reduktoisomerase – Aktivität die in einer bestimmten Zeit durch das Protein 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-

Reduktoisomerase umgesetzte Menge 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat bzw. gebildete Menge 2-C-methyl-D-erythritol 4-Phosphat verstanden.

- Bei einer erhöhten 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Reduktoisomerase-Aktivität gegenüber dem Wildtyp wird somit im Vergleich zum Wildtyp in einer bestimmten Zeit durch das Protein 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Reduktoisomerase die umgesetzte Menge 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat bzw. die gebildete Menge 2-C-methyl-D-erythritol 4-Phosphat erhöht.
- 10 Vorzugsweise beträgt diese Erhöhung der 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Reduktoisomerase -Aktivität mindestens 5 %, weiter bevorzugt mindestens 20 %, weiter bevorzugt mindestens 50 %, weiter bevorzugt mindestens 100 %, bevorzugter mindestens 300 %, noch bevorzugter mindestens 500 %, insbesondere mindestens 600 % 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Reduktoisomerase-Aktivität des Wildtyps.
- 15 Die Bestimmung der 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Reduktoisomerase -Aktivität in erfindungsgemäßen genetisch veränderten Organismen und in Wildtyp- bzw. Referenzorganismen erfolgt vorzugsweise unter folgenden Bedingungen:
- 20 Eingefrorenes Organismenmaterial wird durch intensives Mörsern in flüssigem Stickstoff homogenisiert und mit Extraktionspuffer in einem Verhältnis von 1:1 bis 1:20 extrahiert. Das jeweilige Verhältnis richtet sich nach den Enzymaktivitäten in dem verfügbaren Organismenmaterial, sodaß eine Bestimmung und Quantifizierung der Enzymaktivitäten innerhalb des linearen Messbereiches möglich ist. Typischerweise kann der
- 25 Extraktionspuffer bestehen aus 50 mM HEPES-KOH (pH 7,4), 10 mM MgCl₂, 10 mM KCl, 1 mM EDTA, 1 mM EGTA, 0,1 % (v/v) Triton X-100, 2 mM ε-Aminocapronsäure, 10 % Glyzerin, 5 mM KHCO₃. Kurz vor der Extraktion wird 2 mM DTT und 0,5 mM PMSF zugegeben.
- 30 Die Aktivität der D-1-Deoxyxylulose-5-Phosphat-Reduktoisomerase (DXR) wird gemessen in einem Puffer aus 100 mM Tris-HCl (pH 7,5), 1 mM MnCl₂, 0,3 mM NADPH und 0,3 mM 1-Deoxy-D-Xylulose-4-Phosphat, welches z.B. enzymatisch synthetisiert werden kann (Kuzuyama, Takahashi, Watanabe und Seto: Tetrahedron letters 39 (1998) 4509-4512). Die Reaktion wird durch Zugabe des Organismenextraktes gestartet. Das Reaktionsvolumen kann typischerweise 0,2 bis 0,5 mL betragen; die Inkubation erfolgt bei 37C über 30-60 Minuten. Während dieser Zeit wird die Oxidation von NADPH photometrisch bei 340 nm verfolgt.
- 35

Unter Isopentenyl-Diphosphat- Δ -Isomerase -Aktivität wird die Enzymaktivität einer Isopentenyl-Diphosphat- Δ -Isomerase verstanden.

Unter einer Isopentenyl-Diphosphat- Δ -Isomerase wird ein Protein verstanden, das die enzymatische Aktivität aufweist, Isopentenyl-Diphosphat in Dimethylallylphosphat umzuwandeln.

Dementsprechend wird unter Isopentenyl-Diphosphat- Δ -Isomerase -Aktivität die in einer bestimmten Zeit durch das Protein Isopentenyl-Diphosphat-D- Δ -Isomerase umgesetzte Menge Isopentenyl-Diphosphat bzw. gebildete Menge Dimethylallylphosphat verstanden.

Bei einer erhöhten Isopentenyl-Diphosphat- Δ -Isomerase -Aktivität gegenüber dem Wildtyp wird somit im Vergleich zum Wildtyp in einer bestimmten Zeit durch das Protein Isopentenyl-Diphosphat- Δ -Isomerase die umgesetzte Menge Isopentenyl-Diphosphat bzw. die gebildete Menge Dimethylallylphosphat erhöht.

Vorzugsweise beträgt diese Erhöhung der Isopentenyl-Diphosphat- Δ -Isomerase -Aktivität mindestens 5 %, weiter bevorzugt mindestens 20 %, weiter bevorzugt mindestens 50 %, weiter bevorzugt mindestens 100 %, bevorzugter mindestens 300 %, noch bevorzugter mindestens 500 %, insbesondere mindestens 600 % der Isopentenyl-Diphosphat- Δ -Isomerase Aktivität des Wildtyps.

Die Bestimmung der Isopentenyl-Diphosphat- Δ -Isomerase-Aktivität in erfindungsgemäß genetisch veränderten Organismen und in Wildtyp- bzw. Referenzorganismen erfolgt vorzugsweise unter folgenden Bedingungen:

Eingefrorenes Organismenmaterial wird durch intensives Mörtern in flüssigem Stickstoff homogenisiert und mit Extraktionspuffer in einem Verhältnis von 1:1 bis 1:20 ext-30 rahiert. Das jeweilige Verhältnis richtet sich nach den Enzymaktivitäten in dem verfügbaren Organismenmaterial, so dass eine Bestimmung und Quantifizierung der Enzymaktivitäten innerhalb des linearen Messbereiches möglich ist. Typischerweise kann der Extraktionspuffer bestehen aus 50 mM HEPES-KOH (pH 7,4), 10 mM MgCl₂, 10 mM KCl, 1 mM EDTA, 1 mM EGTA, 0,1 % (v/v) Triton X-100, 2 mM ϵ -Aminocapronsäure, 35 10 % Glyzerin, 5 mM KHCO₃. Kurz vor der Extraktion wird 2 mM DTT und 0,5 mM PMSF zugegeben.

Aktivitätsbestimmungen der Isopentenyl-Diphosphat-Isomerase (IPP-Isomerase) können nach der von Fraser und Kollegen vorgestellten Methode (Fraser, Römer, Shipton, 40 Mills, Kiano, Misawa, Drake, Schuch und Bramley: Evaluation of transgenic tomato

plants expressing an additional phytoene synthase in a fruit-specific manner; Proc. Natl. Acad. Sci. USA 99 (2002), 1092-1097, basierend auf Fraser, Pinto, Holloway und Bramley, Plant Journal 24 (2000), 551-558) durchgeführt werden. Für Enzymmessungen werden Inkubationen mit 0,5 μ Ci (1- 14 C)IPP (Isopentenylpyrophosphat) (56

- 5 mCi/mmol, Amersham plc) als Substrat in 0,4 M Tris-HCl (pH 8,0) mit 1 mM DTT, 4 mM MgCl₂, 6 mM Mn Cl₂, 3 mM ATP, 0,1 % Tween 60, 1 mM Kaliumfluorid in einem Volumen von etwa 150-500 μ l durchgeführt. Extrakte werden mit Puffer gemischt (z.B. im Verhältnis 1:1) und für wenigstens 5 Stunden bei 28°C inkubiert. Danach wird etwa 200 μ l Methanol zugegeben und durch Zugabe von konzentrierter Salzsäure (Endkonzentration 25 %) eine Säurehydrolyse für etwa 1 Stunde bei 37°C durchgeführt. Anschließend erfolgt eine zweimalige Extraktion (jeweils 500 μ l) mit Petrolether (versetzt mit 10% Diethylether). Die Radioaktivität in einem Aliquot der Hyperphase wird mittels Szintillationszähler bestimmt. Die spezifische Enzymaktivität kann bei kurzer Inkubation von 5 Minuten bestimmt werden, da kurze Reaktionszeiten die Bildung von Reaktionsnebenprodukten unterdrückt (siehe Lützow und Beyer: The isopentenyl-diphosphate Δ -isomerase and its relation to the phytoene synthase complex in daffodil chromoplasts; Biochim. Biophys. Acta 959 (1988), 118-126)

20 Unter Geranyl-Diphosphat-Synthase -Aktivität wird die Enzymaktivität einer Geranyl-Diphosphat-Synthase verstanden.

Unter einer Geranyl-Diphosphat-Synthase wird ein Protein verstanden, das die enzymatische Aktivität aufweist, Isopentenyl-Diphosphat und Dimethylallylphosphat in Geranyl-Diphosphat umzuwandeln.

25 Dementsprechend wird unter Geranyl-Diphosphat-Synthase-Aktivität die in einer bestimmten Zeit durch das Protein Geranyl-Diphosphat-Synthase umgesetzte Menge Isopentenyl-Diphosphat und/oder Dimethylallylphosphat bzw. gebildete Menge Geranyl-Diphosphat verstanden.

30 Bei einer erhöhten Geranyl-Diphosphat-Synthase-Aktivität gegenüber dem Wildtyp wird somit im Vergleich zum Wildtyp in einer bestimmten Zeit durch das Protein Geranyl-Diphosphat-Synthase die umgesetzte Menge Isopentenyl-Diphosphat und/oder Dimethylallylphosphat bzw. die gebildete Menge Geranyl-Diphosphat erhöht.

35 Vorzugsweise beträgt diese Erhöhung der Geranyl-Diphosphat-Synthase -Aktivität mindestens 5 %, weiter bevorzugt mindestens 20 %, weiter bevorzugt mindestens 50 %, weiter bevorzugt mindestens 100 %, bevorzugter mindestens 300 %, noch bevorzugter mindestens 500 %, insbesondere mindestens 600 % der Geranyl-

Diphosphat-Synthase—Aktivität des Wildtyps.

Die Bestimmung der Geranyl-Diphosphat-Synthase—Aktivität in erfindungsgemäßen genetisch veränderten Organismen und in Wildtyp- bzw. Referenzorganismen erfolgt 5 vorzugsweise unter folgenden Bedingungen:

Eingefrorenes Organismenmaterial wird durch intensives Mörsern in flüssigem Stickstoff homogenisiert und mit Extraktionspuffer in einem Verhältnis von 1:1 bis 1:20 extrahiert. Das jeweilige Verhältnis richtet sich nach den Enzymaktivitäten in dem verfügbaren Organismenmaterial, so dass eine Bestimmung und Quantifizierung der Enzymaktivitäten innerhalb des linearen Messbereiches möglich ist. Typischerweise kann der Extraktionspuffer bestehen aus 50 mM HEPES-KOH (pH 7.4), 10 mM MgCl₂, 10 mM KCl, 1 mM EDTA, 1 mM EGTA, 0,1 % (v/v) Triton X-100, 2 mM ε-Aminocapronsäure, 10 % Glyzerin, 5 mM KHCO₃. Kurz vor der Extraktion wird 2 mM DTT und 0,5 mM PMSF zugegeben.

Die Aktivität der Geranyl-Diphosphat-Synthase (GPP-Synthase) kann in 50 mM Tris-HCl (pH 7.6), 10 mM MgCl₂, 5 mM MnCl₂, 2 mM DTT, 1 mM ATP, 0.2 % Tween-20, 5 μM (¹⁴C)IPP und 50 μM DMAPP (Dimethylallylpyrophosphat) nach Zugabe von Organismenextrakt bestimmt werden (nach Bouvier, Suire, d'Harlingue, Backhaus und Camara: Molecular cloning of geranyl diphosphate synthase and compartmentation of monoterpane synthesis in plant cells, Plant Journal 24 (2000) 241-252). Nach der Inkubation von z.B. 2 Stunden bei 37 °C werden die Reaktionsprodukte dephosphoryliert (nach Koyama, Fuji und Ogura: Enzymatic hydrolysis of polyprenyl pyrophosphats, 25 Methods Enzymol. 110 (1985), 153-155) und mittels Dünnschichtchromatographie und Messung der inkorporierten Radioaktivität analysiert (Dogbo, Bardat, Quennemet und Camara: Metabolism of plastid terpenoids: In vitro inhibition of phytoene synthesis by phenethyl pyrophosphate derivates, FEBS Letters 219 (1987) 211-215).

30 Unter Farnesyl-Diphosphat-Synthase-Aktivität wird die Enzymaktivität einer Farnesyl-Diphosphat-Synthase verstanden.

Unter einer Farnesyl-Diphosphat-Synthase wird ein Protein verstanden, das die enzymatische Aktivität aufweist, sequentiell 2 Molekülsopentenyl-Diphosphat mit Dimethylallyl-Diphosphat und dem resultierenden Geranyl-Diphosphat in Farnesyl-Diphosphat umzuwandeln.

40 Dementsprechend wird unter Farnesyl-Diphosphat-Synthase—Aktivität die in einer bestimmten Zeit durch das Protein Farnesyl-Diphosphat-Synthase umgesetzte Menge Dimethylallyl-Diphosphate und/oder Isopentenyl-Diphosphat bzw. gebildete Menge

Farnesyl-Diphosphat verstanden.

Bei einer erhöhten Farnesyl-Diphosphat-Synthase –Aktivität gegenüber dem Wildtyp wird somit im Vergleich zum Wildtyp in einer bestimmten Zeit durch das Protein Farne-

- 5 syl-Diphosphat-Synthase die umgesetzte Menge Dimethylallyl-Diphosphate und/oder Isopentenyl-Diphosphat bzw. die gebildete Menge Farnesyl-Diphosphat erhöht.

Vorzugsweise beträgt diese Erhöhung der Farnesyl-Diphosphat-Synthase –Aktivität mindestens 5 %, weiter bevorzugt mindestens 20 %, weiter bevorzugt mindestens

- 10 50 %, weiter bevorzugt mindestens 100 %, bevorzugter mindestens 300 %, noch bevorzugter mindestens 500 %, insbesondere mindestens 600 % der Farnesyl-Diphosphat-Synthase–Aktivität des Wildtyps.

- 15 Die Bestimmung der Farnesyl-Diphosphat-Synthase–Aktivität in erfindungsgemäßigen genetisch veränderten Organismen und in Wildtyp- bzw. Referenzorganismen erfolgt vorzugsweise unter folgenden Bedingungen:

- 20 Eingefrorenes Organismenmaterial wird durch intensives Mörsern in flüssigem Stickstoff homogenisiert und mit Extraktionspuffer in einem Verhältnis von 1:1 bis 1:20 ext-
rahiert. Das jeweilige Verhältnis richtet sich nach den Enzymaktivitäten in dem verfügbaren Organismenmaterial, so dass eine Bestimmung und Quantifizierung der Enzym-
aktivitäten innerhalb des linearen Messbereiches möglich ist. Typischerweise kann der Extraktionspuffer bestehen aus 50 mM HEPES-KOH (pH 7.4), 10 mM MgCl₂, 10 mM KCl, 1 mM EDTA, 1 mM EGTA, 0,1 % (v/v) Triton X-100, 2 mM ε-Aminocapronsäure,
25 10 % Glyzerin, 5 mM KHCO₃. Kurz vor der Extraktion wird 2 mM DTT und 0,5 mM PMSF zugegeben.

- 30 Die Aktivität der Franesylpyrophosphat-Synthase (FPP-Synthase) kann nach einer Vorschrift von Joly und Edwards (Journal of Biological Chemistry 268 (1993), 26983-
26989) bestimmt werden. Danach wird die Enzymaktivität in einem Puffer aus 10 mM HEPES (pH 7,2), 1 mM MgCl₂, 1 mM Dithiothreitol, 20 μM Geranylpyrophosphat und
40 μM (1-¹⁴C) Isopentenylpyrophosphat (4 Ci/mmol) gemessen. Die Reaktionsmis-
schung wird bei 37°C inkubiert; die Reaktion wird durch Zugabe von 2,5 N HCl (in 70 % Ethanol mit 19 μg/ml Farnesol) gestoppt. Die Reaktionsprodukte werden somit durch
35 Säurehydrolyse bei 37C innerhalb von 30 Minuten hydrolysiert. Durch Zugabe von 10% NaOH wird die Mischung neutralisiert und mit Hexan ausgeschüttelt. Ein Aliquot der Hexanphase kann zur Bestimmung der eingebauten Radioaktivität mittels Szintillationszählern gemessen werden.

- Alternativ können nach Inkubation von Organismenextrakt und radioaktiv markierten IPP die Reaktionsprodukte mittels Dünnschichtchromatographie (Silica-Gel SE60, Merck) in Benzol/Methanol (9:1) getrennt werden. Radioaktiv markierte Produkte werden eluiert und die Radioaktivität bestimmt (nach Gaffe, Bru, Causse, Vidal, Stamitti-Bert, Carde und Gallusci: LEFPS1, a tomato farnesyl pyrophosphate gene highly expressed during early fruit development; Plant Physiology 123 (2000) 1351-1362).

Unter Geranyl-Geranyl-Diphosphat-Synthase -Aktivität wird die Enzymaktivität einer Geranyl-Geranyl-Diphosphat-Synthase verstanden.

- 10 Unter einer Geranyl-Geranyl-Diphosphat-Synthase wird ein Protein verstanden, das die enzymatische Aktivität aufweist, Farnesyl-Diphosphat und Isopentenyl-Diphosphat in Geranyl-Geranyl-Diphosphat umzuwandeln.
- 15 Dementsprechend wird unter Geranyl-Geranyl-Diphosphat-Synthase-Aktivität die in einer bestimmten Zeit durch das Protein Geranyl-Geranyl-Diphosphat-Synthase umgesetzte Menge Farnesyl-Diphosphat und/oder Isopentenyl-Diphosphat bzw. gebildete Menge Geranyl-Geranyl-Diphosphat verstanden.
- 20 Bei einer erhöhten Geranyl-Geranyl-Diphosphat-Synthase –Aktivität gegenüber dem Wildtyp wird somit im Vergleich zum Wildtyp in einer bestimmten Zeit durch das Protein Geranyl-Geranyl-Diphosphat-Synthase die umgesetzte Menge Farnesyl-Diphosphat und/oder Isopentenyl-Diphosphat bzw. die gebildete Menge Geranyl-Geranyl-Diphosphat erhöht.
- 25 Vorzugsweise beträgt diese Erhöhung der Geranyl-Geranyl-Diphosphat-Synthase –Aktivität mindestens 5 %, weiter bevorzugt mindestens 20 %, weiter bevorzugt mindestens 50 %, weiter bevorzugt mindestens 100 %, bevorzugter mindestens 300 %, noch bevorzugter mindestens 500 %, insbesondere mindestens 600 % der Geranyl-Geranyl-
- 30 Piphosphat-Synthase–Aktivität des Wildtyps.

Die Bestimmung der Geranyl-Geranyl-Diphosphat-Synthase –Aktivität in erfindungsgemäßen genetisch veränderten Organismen und in Wildtyp- bzw. Referenzorganismen erfolgt vorzugsweise unter folgenden Bedingungen:

- 35 Eingefrorenes Organismenmaterial wird durch intensives Mörsern in flüssigem Stickstoff homogenisiert und mit Extraktionspuffer in einem Verhältnis von 1:1 bis 1:20 extrahiert. Das jeweilige Verhältnis richtet sich nach den Enzymaktivitäten in dem verfügbaren Organismenmaterial, so dass eine Bestimmung und Quantifizierung der Enzymaktivitäten innerhalb des linearen Messbereiches möglich ist. Typischerweise kann der
- 40

Extraktionspuffer bestehen aus 50 mM HEPES-KOH (pH 7,4), 10 mM MgCl₂, 10 mM KCl, 1 mM EDTA, 1 mM EGTA, 0,1 % (v/v) Triton X-100, 2 mM ϵ -Aminocapronsäure, 10 % Glyzerin, 5 mM KHCO₃. Kurz vor der Extraktion wird 2 mM DTT und 0,5 mM PMSF zugegeben.

5

Aktivitätsmessungen der Geranylgeranylpyrophosphat-Synthase (GGPP-Synthase) können nach der von Dogbo und Camara beschriebenen Methode (in Biochim. Biophys. Acta 920 (1987), 140-148: Purification of isopentenyl pyrophosphate isomerase and geranylgeranyl pyrophosphate synthase from Capsicum chromoplasts by affinity chromatography) bestimmt werden. Dazu wird einem Puffer (50 mM Tris-HCl (pH 7,6),

10 2 mM MgCl₂, 1 mM MnCl₂, 2 mM Dithiothreitol, (1-¹⁴C)IPP (0,1 μ Ci, 10 μ M), 15 μ M DMAPP, GPP oder FPP) mit einem Gesamtvolume von etwa 200 μ l Organismenextrakt zugesetzt: Die Inkubation kann für 1-2 Stunden (oder länger) bei 30°C erfolgen. Die Reaktion wird durch Zugabe von 0,5 ml Ethanol und 0,1 ml 6N HCl. Nach

15 10minütiger Inkubation bei 37°C wird die Reaktionsmischung mit 6N NaOH neutralisiert, mit 1 ml Wasser vermischt und mit 4 ml Diethylether ausgeschüttelt. In einem Aliquot (z.B. 0,2 mL) der Etherphäse wird mittels Szintillationszählung die Menge an Radioaktivität bestimmt. Alternativ können nach Säurehydrolyse die radioaktiv markierten Prenylalkohole in Ether ausgeschüttelt werden und mit HPLC (25 cm-Säule Sphero-
20 sorb ODS-1, 5 μ m; Elution mit Methanol/Wasser (90:10; v/v) bei einer Flussrate von 1 ml/min) getrennt und mittels Radioaktivitätsmonitor quantifiziert werden (nach Wiedemann, Misawa und Sandmann: Purification and enzymatic characterization of the geranylgeranyl pyrophosphate synthase from Erwinia uredovora after expression in Escherichia coli; Archives Biochemistry and Biophysics 306 (1993), 152-157).

25

Unter Phytoen-Synthase-Aktivität wird die Enzymaktivität einer Phytoen-Synthase verstanden.

Insbesondere wird unter einer Phytoen-Synthase ein Protein verstanden, das die enzymatische Aktivität aufweist, Geranyl-Geranyl-Diphosphat in Phytoen umzuwandeln.

Dementsprechend wird unter Phytoen-Synthase -Aktivität die in einer bestimmten Zeit durch das Protein Phytoen-Synthase umgesetzte Menge Geranyl-Geranyl-Diphosphat bzw. gebildete Menge Phytoen verstanden.

35

Bei einer erhöhten Phytoen-Synthase -Aktivität gegenüber dem Wildtyp wird somit im Vergleich zum Wildtyp in einer bestimmten Zeit durch das Protein Phytoen-Synthase die umgesetzte Menge Geranyl-Geranyl-Diphosphat bzw. die gebildete Menge Phytoen erhöht.

40

Vorzugsweise beträgt diese Erhöhung der Phytoen-Synthase-Aktivität mindestens 5 %, weiter bevorzugt mindestens 20 %, weiter bevorzugt mindestens 50 %, weiter bevorzugt mindestens 100 %, bevorzugter mindestens 300 %, noch bevorzugter mindestens 500 %, insbesondere mindestens 600 % der Phytoen-Synthase-Aktivität des Wildtyps.

Die Bestimmung der Phytoen-Synthase-Aktivität in erfindungsgemäßen genetisch veränderten Organismen und in Wildtyp- bzw. Referenzorganismen erfolgt vorzugsweise unter folgenden Bedingungen:

- Eingefrorenes Organismenmaterial wird durch intensives Mörsern in flüssigem Stickstoff homogenisiert und mit Extraktionspuffer in einem Verhältnis von 1:1 bis 1:20 extrahiert. Das jeweilige Verhältnis richtet sich nach den Enzymaktivitäten in dem verfügbaren Organismenmaterial, so dass eine Bestimmung und Quantifizierung der Enzymaktivitäten innerhalb des linearen Messbereiches möglich ist. Typischerweise kann der Extraktionspuffer bestehen aus 50 mM HEPES-KOH (pH 7,4), 10 mM MgCl₂, 10 mM KCl, 1 mM EDTA, 1 mM EGTA, 0,1 % (v/v) Triton X-100, 2 mM ε-Aminocapronsäure, 10 % Glyzerin, 5 mM KHCO₃. Kurz vor der Extraktion wird 2 mM DTT und 0,5 mM PMSF zugegeben.
- Aktivitätsbestimmungen der Phytoen-Synthase (PSY) können nach der von Fraser und Kollegen vorgestellten Methode (Fraser, Romer, Shipton, Mills, Kiano, Misawa, Drake, Schuch und Bramley: Evaluation of transgenic tomato plants expressing an additional phytoene synthase in a fruit-specific manner; Proc. Natl. Acad. Sci. USA 99 (2002), 1092-1097, basierend auf Fraser, Pinto, Holloway und Bramley, Plant Journal 24 (2000) 551-558) durchgeführt werden. Für Enzymmessungen werden Inkubationen mit (³H)Geranylgeranyl-pyrophosphat (15 mCi/mM, American Radiolabeled Chemicals, St. Louis) als Substrat in 0,4 M Tris-HCl (pH 8,0) mit 1 mM DTT, 4 mM MgCl₂, 6 mM MnCl₂, 3 mM ATP, 0,1 % Tween 60, 1 mM Kaliumfluorid durchgeführt. Organismenextrakte werden mit Puffer gemischt, z.B. 295 µl Puffer mit Extrakt in einem Gesamtvolumen von 500 µl. Inkubiert wird für wenigstens 5 Stunden bei 28°C. Anschließend wird Phytoene durch zweimaliges Ausschütteln (jeweils 500 µl) mit Chloroform extrahiert. Das während der Reaktion gebildete radioaktiv markierte Phytoene wird mittels Dünn-schichtchromatographie auf Silicaplatten in Methanol/Wasser (95:5; v/v) getrennt. Phytoene kann in einer Jod-angereicherten Atmosphäre (durch Erhitzen weniger Iodkristalle) auf den Silicaplatten identifiziert werden. Ein Phytoene-Standard dient als Referenz. Die Menge an radioaktiv markiertem Produkt wird mittels Messung im Szintillationszähler bestimmt. Alternativ kann Phytoene auch mittels HPLC, die mit einem Radioaktivitätsdetektor versehen ist, quantifiziert werden (Fraser, Albrecht und Sandmann: Development of high performance liquid chromatographic systems for the separation of

radiolabeled carotenes and precursors formed in specific enzymatic reactions; J. Chromatogr. 645 (1993) 265-272).

Unter Phytoen-Desaturase-Aktivität wird die Enzymaktivität einer Phytoen-Desaturase
5 verstanden.

Unter einer Phytoen-Desaturase wird ein Protein verstanden, das die enzymatische Aktivität aufweist, Phytoen in Phytofluen und/oder Phytofluen in ζ -Carotin (Zetacarotin) umzuwandeln.

10 Dementsprechend wird unter Phytoen-Desaturase-Aktivität die in einer bestimmten Zeit durch das Protein Phytoen-Desaturase umgesetzte Menge Phytoen bzw. Phytofluen bzw. gebildete Menge Phytofluen bzw. ζ -Carotin verstanden.

15 Bei einer erhöhten Phytoen-Desaturase-Aktivität gegenüber dem Wildtyp wird somit im Vergleich zum Wildtyp in einer bestimmten Zeit durch das Protein Phytoen-Desaturase die umgesetzte Menge Phytoen bzw. Phytofluen bzw. die gebildete Menge Phytofluen bzw. ζ -Carotin erhöht.

20 Vorzugsweise beträgt diese Erhöhung der Phytoen-Desaturase-Aktivität mindestens 5 %, weiter bevorzugt mindestens 20 %, weiter bevorzugt mindestens 50 %, weiter bevorzugt mindestens 100 %, bevorzugter mindestens 300 %, noch bevorzugter mindestens 500 %, insbesondere mindestens 600 % der Phytoen-Desaturase-Aktivität des Wildtyps.

25 Die Bestimmung der Phytoen-Desaturase-Aktivität in erfindungsgemäßen genetisch veränderten Organismen und in Wildtyp- bzw. Referenzorganismen erfolgt vorzugsweise unter folgenden Bedingungen:

30 Eingefrorenes Organismenmaterial wird durch intensives Mörsern in flüssigem Stickstoff homogenisiert und mit Extraktionspuffer in einem Verhältnis von 1:1 bis 1:20 extrahiert. Das jeweilige Verhältnis richtet sich nach den Enzymaktivitäten in dem verfügbaren Organismenmaterial, so dass eine Bestimmung und Quantifizierung der Enzymaktivitäten innerhalb des linearen Messbereiches möglich ist. Typischerweise
35 kann der Extraktionspuffer bestehen aus 50 mM HEPES-KOH (pH 7,4), 10 mM MgCl₂, 10 mM KCl, 1 mM EDTA, 1 mM EGTA, 0,1 % (v/v) Triton X-100, 2 mM ϵ -Aminocapronsäure, 10 % Glycerin, 5 mM KHCO₃. Kurz vor der Extraktion wird 2 mM DTT und 0,5 mM PMSF zugegeben.

- Die Aktivität der Phytoen-Desaturase (PDS) kann durch die Inkorporation von radioaktiv markiertem (¹⁴C)-Phytoen in ungesättigte Carotine gemessen werden (nach Römer, Fraser, Kiano, Shipton, Misawa, Schuch und Bramley: Elevation of the provitamin A content of transgenic tomato plants; Nature Biotechnology 18 (2000) 666-669). Radioaktiv markiertes Phytoene kann synthetisiert werden nach Fraser (Fraser, De la Rivas, Mackenzie, Bramley: Phycomyces blakesleanus CarB mutants: their use in assays of phytoene desaturase; Phytochemistry 30 (1991), 3971-3976). Membranen von Plastiden des Zielgewebes können mit 100 mM MES-Puffer (pH 6,0) mit 10 mM MgCl₂ und 1 mM Dithiothreitol in einem Gesamtvolumen von 1 mL inkubiert werden. In Aceton gelöstes (¹⁴C)-Phytoen (etwa 100.000 Zerfälle/Minute für jeweils eine Inkubation) wird zugegeben, wobei die Acetonkonzentration 5 % (v/v) nicht übersteigen sollte. Diese Mischung wird bei 28C für etwa 6 bis 7 Stunden im Dunklen unter Schütteln inkubiert. Danach werden Pigmente dreimal mit etwa 5 mL Petrolether (mit 10 % Diethylether versetzt) extrahiert und mittels HPLC getrennt und quantifiziert.
- Alternativ kann die Aktivität der Phytoen-Desaturase nach Fraser et al. (Fraser, Misawa, Linden, Yamano, Kobayashi und Sandmann: Expression in Escherichia coli, purification, and reactivation of the recombinant Erwinia uredovora phytoene desaturase, Journal of Biological Chemistry 267 (1992), 19891-9895) gemessen werden.
- Unter Zeta-Carotin-Desaturase-Aktivität wird die Enzymaktivität einer Zeta-Carotin-Desaturase verstanden.
- Unter einer Zeta-Carotin-Desaturase wird ein Protein verstanden, das die enzymatische Aktivität aufweist, ζ -Carotin in Neurosporin und/oder Neurosporin in Lycopin umzuwandeln.
- Dementsprechend wird unter Zeta-Carotin-Desaturase-Aktivität die in einer bestimmten Zeit durch das Protein Zeta-Carotin-Desaturase umgesetzte Menge ζ -Carotin oder Neurosporin bzw. gebildete Menge Neurosporin oder Lycopin verstanden.
- Bei einer erhöhten Zeta-Carotin-Desaturase-Aktivität gegenüber dem Wildtyp wird somit im Vergleich zum Wildtyp in einer bestimmten Zeit durch das Protein Zeta-Carotin-Desaturase die umgesetzte Menge ζ -Carotin oder Neurosporin bzw. die gebildete Menge Neurosporin oder Lycopin erhöht.
- Vorzugsweise beträgt diese Erhöhung der Zeta-Carotin-Desaturase-Aktivität mindestens 5 %, weiter bevorzugt mindestens 20 %, weiter bevorzugt mindestens 50 %, weiter bevorzugt mindestens 100 %, bevorzugter mindestens 300 %, noch bevorzugter mindestens 500 %, insbesondere mindestens 600 % der Zeta-Carotin-Desaturase –

Aktivität des Wildtyps.

Die Bestimmung der Zeta-Carotin-Desaturase-Aktivität in erfindungsgemäßen genetisch veränderten Organismen und in Wildtyp- bzw. Referenzorganismen erfolgt vor-

5 zugsweise unter folgenden Bedingungen:

Eingefrorenes Organismenmaterial wird durch intensives Mörsern in flüssigem Stickstoff homogenisiert und mit Extraktionspuffer in einem Verhältnis von 1:1 bis 1:20 extrahiert. Das jeweilige Verhältnis richtet sich nach den Enzymaktivitäten in dem verfügbaren

10 Organismenmaterial, so dass eine Bestimmung und Quantifizierung der Enzymaktivitäten innerhalb des linearen Messbereiches möglich ist. Typischerweise kann der Extraktionspuffer bestehen aus 50 mM HEPES-KOH (pH 7,4), 10 mM MgCl₂, 10 mM KCl, 1 mM EDTA, 1 mM EGTA, 0,1 % (v/v) Triton X-100, 2 mM ε-Aminocapronsäure, 10 % Glyzerin, 5 mM KHCO₃. Kurz vor der Extraktion wird 2 mM DTT und 0,5 mM PMSF zugegeben.

Analysen zur Bestimmung der ξ-Carotin-Desaturase (ZDS-Desaturase) können in 0,2 M Kaliumphosphat (pH 7,8, Puffervolumen von etwa 1 ml) durchgeführt werden. Die Analysemethode dazu wurde von Breitenbach und Kollegen (Breitenbach, Kuntz, Takai-
20 chi und Sandmann: Catalytic properties of an expressed and purified higher plant type
ξ-carotene desaturase from Capsicum annuum; European Journal of Biochemistry.
265(1):376-383, 1999) publiziert. Jeder Analyseansatz enthält 3 mg Phosphatidylcholin, das in 0,4 M Kaliumphosphatpuffer (pH 7,8) suspendiert ist, 5 µg ξ-Carotin oder
Neurosporin, 0,02 % Butylhydroxytoluol, 10 µl Decyl-Plastochinon (1 mM methanolische
25 Stammlösung) und Organismenextrakt. Das Volumen des Organismenextraktes muß der Menge an vorhandener ZDS-Desaturase-Aktivität angepasst werden, um Quantifizierungen in einem linearen Messbereich zu ermöglichen. Inkubationen erfolgen typischerweise für etwa 17 Stunden bei kräftigem Schütteln (200 Umdrehungen/Minute) bei etwa 28°C im Dunklen. Carotinoide werden durch Zugabe von 4 ml Aceton bei 50°C für 10 Minuten unter Schütteln extrahiert. Aus dieser Mischung werden die Carotinoide in eine Petroletherphase (mit 10 % Diethylether) überführt. Die Dethylether/Petroletherphase wird unter Stickstoff evapotiert, die Carotinoide wieder in 20 µl gelöst und mittels HPLC getrennt und quantifiziert.

30 Unter crtISO -Aktivität wird die Enzymaktivität eines crtISO-Proteins verstanden.

Unter einem crtISO-Proteins wird ein Protein verstanden, das die enzymatische Aktivität aufweist, 7,9,7',9'-tetra-cis-Lycopin in all-trans-Lycopin umzuwandeln.

Dementsprechend wird unter crtISO-Aktivität die in einer bestimmten Zeit durch das Protein crtISO umgesetzte Menge 7,9,7',9'-tetra-cis-Lycopin bzw. gebildete Menge all-trans-Lycopin verstanden.

- 5 Bei einer erhöhten crtISO-Aktivität gegenüber dem Wildtyp wird somit im Vergleich zum Wildtyp in einer bestimmten Zeit durch das crtISO-Proteins die umgesetzte Menge 7,9,7',9'-tetra-cis-Lycopin bzw. die gebildete Menge all-trans-Lycopin erhöht.

Vorzugsweise beträgt diese Erhöhung der crtISO-Aktivität mindestens 5 %, weiter bevorzugt mindestens 20 %, weiter bevorzugt mindestens 50 %, weiter bevorzugt mindestens 100 %, bevorzugter mindestens 300 %, noch bevorzugter mindestens 500 %, insbesondere mindestens 600 % der crtISO-Aktivität des Wildtyps.

Unter FtsZ-Aktivität wird die physiologische Aktivität eines FtsZ-Proteins verstanden.

15 Unter einem FtsZ-Protein wird ein Protein verstanden, das eine Zellteilungs und Plastide teilungs-fördernde Wirkung hat und Homologien zu Tubulinproteinen aufweist.

Unter MinD -Aktivität wird die physiologische Aktivität eines MinD -Proteins verstanden.

20 Unter einem MinD -Protein wird ein Protein verstanden, das eine multifunktionale Rolle bei der Zellteilung aufweist. Es ist eine Membran-assoziierte ATPase und kann innerhalb der Zelle eine oszillierende Bewegung von Pol zu Pol zeigen.

25 Weiterhin kann die Erhöhung der Aktivität von Enzymen des Nicht-Mevalonatweges zu einer weiteren Erhöhung des gewünschten Ketocarotenoid-Endproduktes führen. Beispiele hierfür sind die 4-Diphosphocytidyl-2-C-Methyl-D-Erythritol-Synthase, die 4-Diphosphocytidyl-2-C-Methyl-D-Erythritol-Kinase und die 2-C-Methyl-D-Erythritol-2,4-cyclodiphosphat-Synthase. Durch Änderungen der Genexpression der entsprechenden 30 Gene kann die Aktivität der genannten Enzyme erhöht werden. Die veränderten Konzentrationen der relevanten Proteine können standardgemäß mittels Antikörpern und entsprechenden Blotting-techniken nachgewiesen werden.

Die Erhöhung der HMG-CoA-Reduktase-Aktivität und/oder (E)-4-Hydroxy-3-Methylbut-35 2-enyl-Diphosphat-Reduktase-Aktivität und/oder 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Synthase-Aktivität und/oder 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Reduktoisomerase-Aktivität und/oder Isopentenyl-Diphosphat- Δ -Isomerase-Aktivität und/oder Geranyl-Diphosphat-Synthase-Aktivität und/oder Farnesyl-Diphosphat-Synthase-Aktivität und/oder Geranylgeranyl-Diphosphat-Synthase-Aktivität und/oder Phytoen-Synthase-Aktivität und/oder 40 Phytoen-Desaturase-Aktivität und/oder Zeta-Carotin-Desaturase-Aktivität und/oder

crtISO-Aktivität und/oder FtsZ-Aktivität und/oder MinD-Aktivität kann durch verschiedene Wege erfolgen, beispielsweise durch Ausschalten von hemmenden Regulationsmechanismen auf Expressions- und Proteinebene oder durch Erhöhung der Genexpression von Nukleinsäuren kodierend eine HMG-CoA-Reduktase und/oder Nukleinsäuren

- 5 kodierend eine (E)-4-Hydroxy-3-Methylbut-2-enyl-Diphosphat-Reduktase und/oder Nukleinsäuren kodierend eine 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Synthase und/oder Nukleinsäuren kodierend eine 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Reduktoisomerase und/oder Nukleinsäuren kodierend eine Isopentenyl-Diphosphat- Δ -Isomerase und/oder Nukleinsäuren kodierend eine Geranyl-Diphosphat-Synthase und/oder Nukleinsäuren kodierend eine Farnesyl-Diphosphat-Synthase und/oder Nukleinsäuren kodierend eine Geranyl-geranyl-Diphosphat-Synthase und/oder Nukleinsäuren kodierend eine Phytoen-Synthase und/oder Nukleinsäuren kodierend eine Phytoen-Desaturase und/oder Nukleinsäuren kodierend eine Zeta-Carotin-Desaturase und/oder Nukleinsäuren kodierend ein crtISO-Protein und/oder Nukleinsäuren kodierend ein FtsZ-Protein und/oder Nukleinsäuren kodierend ein MinD-Protein gegenüber dem Wildtyp.
- 10
- 15

Die Erhöhung der Genexpression der Nukleinsäuren kodierend eine HMG-CoA-Reduktase und/oder Nukleinsäuren kodierend eine (E)-4-Hydroxy-3-Methylbut-2-enyl-Diphosphat-Reduktase und/oder Nukleinsäuren kodierend eine 1-Deoxy-D-Xylose-5-

- 20 Phosphat-Synthase und/oder Nukleinsäuren kodierend eine 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Reduktoisomerase und/oder Nukleinsäuren kodierend eine Isopentenyl-Diphosphat- Δ -Isomerase und/oder Nukleinsäuren kodierend eine Geranyl-Diphosphat-Synthase und/oder Nukleinsäuren kodierend eine Geranyl-geranyl-Diphosphat-Synthase und/oder Nukleinsäuren kodierend eine Phytoen-Synthase und/oder Nukleinsäuren kodierend eine Phytoen-Desaturase und/oder Nukleinsäuren kodierend eine Zeta-Carotin-Desaturase und/oder Nukleinsäuren kodierend ein crtISO-Protein und/oder Nukleinsäuren kodierend ein FtsZ-Protein und/oder Nukleinsäuren kodierend ein MinD-Protein gegenüber dem Wildtyp kann ebenfalls durch verschiedene Wege erfolgen, beispielsweise durch Induzierung des HMG-CoA-Reduktase-Gens und/oder (E)-4-Hydroxy-3-Methylbut-2-enyl-Diphosphat-Reduktase-Gens und/oder 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Synthase-Gens und/oder 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Reduktoisomerase-Gens und/oder Isopentenyl-Diphosphat- Δ -Isomerase-Gens und/oder Geranyl-Diphosphat-Synthase-Gens und/oder Farnesyl-Diphosphat-Synthase-Gens und/oder Geranyl-geranyl-Diphosphat-Synthase-Gens und/oder Phytoen-Synthase-Gens und/oder Phytoen-Desaturase-Gens und/oder Zeta-Carotin-Desaturase-Gens und/oder crtISO-Gens und/oder FtsZ-Gens und/oder MinD-Gens durch Aktivatoren oder durch Einbringen von einer oder mehrerer Kopien des HMG-CoA-Reduktase-Gens und/oder (E)-4-Hydroxy-3-Methylbut-2-enyl-Diphosphat-Reduktase-Gens und/oder 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Synthase-Gens und/oder 1-
- 25
- 30
- 35
- 40

Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Reduktoisomerase-Gens und/oder Isopentenyl-Diphosphat- Δ -Isomerase-Gens und/oder Geranyl-Diphosphat-Synthase-Gens und/oder Farnesyl-Diphosphat-Synthase-Gens und/oder Geranyl-geranyl-Diphosphat-Synthase-Gens und/oder Phytoen-Synthase-Gens und/oder Phytoen-Desaturase-Gens und/oder

5 Zeta-Carotin-Desaturase-Gens und/oder crtISO-Gens und/oder FtsZ-Gens und/oder MinD-Gens, also durch Einbringen mindestens einer Nukleinsäure kodierend eine HMG-CoA-Reduktase und/oder mindestens einer Nukleinsäure kodierend eine (E)-4-Hydroxy-3-Methylbut-2-enyl-Diphosphat-Reduktase und/oder mindestens einer Nukleinsäure kodierend eine 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Synthase und/oder mindestens einer Nukleinsäure kodierend eine 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-

10 Reduktoisomerase und/oder mindestens einer Nukleinsäure kodierend eine Isopentenyl-Diphosphat- Δ -Isomerase und/oder mindestens einer Nukleinsäure kodierend eine Geranyl-Diphosphat-Synthase und/oder mindestens einer Nukleinsäure kodierend eine Farnesyl-Diphosphat-Synthase und/oder mindestens einer Nukleinsäure kodierend

15 eine Geranyl-geranyl-Diphosphat-Synthase und/oder mindestens einer Nukleinsäure kodierend eine Phytoen-Synthase und/oder mindestens einer Nukleinsäure kodierend eine Phytoen-Desaturase und/oder mindestens einer Nukleinsäure kodierend eine Zeta-Carotin-Desaturase und/oder mindestens einer Nukleinsäure kodierend ein crtISO-Protein und/oder mindestens einer Nukleinsäure kodierend ein FtsZ-Protein und/oder

20 mindestens einer Nukleinsäure kodierend ein MinD-Protein in die Pflanze.

Unter Erhöhung der Genexpression einer Nukleinsäure kodierend eine HMG-CoA-Reduktase und/oder (E)-4-Hydroxy-3-Methylbut-2-enyl-Diphosphat-Reduktase und/oder 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Reduktoisomerase und/oder Isopentenyl-Diphosphat- Δ -Isomerase und/oder Geranyl-Diphosphat-Synthase und/oder Farnesyl-Diphosphat-Synthase und/oder Geranyl-geranyl-Diphosphat-Synthase und/oder Phytoen-Synthase und/oder Phytoen-Desaturase und/oder Zeta-Carotin-Desaturase und/oder ein crtISO-Protein und/oder FtsZ-Protein und/oder MinD-Protein wird erfundungsgemäß auch die Manipulation der Expression der Organismen eigenen, endogenen HMG-CoA-Reduktase und/oder (E)-4-Hydroxy-3-Methylbut-2-enyl-Diphosphat-Reduktase und/oder 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Synthase und/oder 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Reduktoisomerase und/oder Isopentenyl-Diphosphat- Δ -Isomerase und/oder Geranyl-Diphosphat-Synthase und/oder Farnesyl-Diphosphat-Synthase und/oder Geranyl-geranyl-Diphosphat-Synthase und/oder Phytoen-Synthase und/oder Phytoen-Desaturase und/oder Zeta-Carotin-Desaturase und/oder des Organismen eigenen crtISO-Proteins und/oder FtsZ-Proteins und/oder MinD-Proteins verstanden.

Dies kann beispielsweise durch Veränderung der entsprechenden Promotor DNA-Sequenz erreicht werden. Eine solche Veränderung, die eine erhöhte Expressionsrate

des Gens zur Folge hat, kann beispielsweise durch Deletion oder Insertion von DNA Sequenzen erfolgen.

- In einer bevorzugten Ausführungsform erfolgt die Erhöhung der Genexpression einer Nukleinsäure kodierend eine HMG-CoA-Reduktase und/oder die Erhöhung der Genexpression einer Nukleinsäure kodierend eine (E)-4-Hydroxy-3-Methylbut-2-enyl-Diphosphat-Reduktase und/oder die Erhöhung der Genexpression einer Nukleinsäure kodierend eine 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Synthase und/oder die Erhöhung der Genexpression einer Nukleinsäure kodierend eine 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Reduktoisomerase und/oder die Erhöhung der Genexpression einer Nukleinsäure kodierend eine Isopentenyl-Diphosphat- Δ -Isomerase und/oder die Erhöhung der Genexpression einer Nukleinsäure kodierend eine Geranyl-Diphosphat-Synthase und/oder die Erhöhung der Genexpression einer Nukleinsäure kodierend eine Farnesyl-Diphosphat-Synthase und/oder die Erhöhung der Genexpression einer Nukleinsäure kodierend eine Geranyl-geranyl-Diphosphat-Synthase und/oder die Erhöhung der Genexpression einer Nukleinsäure kodierend eine Phytoen-Synthase und/oder die Erhöhung der Genexpression einer Nukleinsäure kodierend eine Phytoen-Desaturase und/oder die Erhöhung der Genexpression einer Nukleinsäure kodierend eine Zeta-Carotin-Desaturase und/oder die Erhöhung der Genexpression einer Nukleinsäure kodierend ein crtISO-Protein und/oder die Erhöhung der Genexpression einer Nukleinsäure kodierend ein FtsZ-Protein und/oder die Erhöhung der Genexpression einer Nukleinsäure kodierend ein MinD-Protein durch Einbringen von mindestens einer Nukleinsäure kodierend eine HMG-CoA-Reduktase und/oder durch Einbringen von mindestens einer Nukleinsäure kodierend eine (E)-4-Hydroxy-3-Methylbut-2-enyl-Diphosphat-Reduktase und/oder durch Einbringen von mindestens einer Nukleinsäure kodierend eine 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Synthase und/oder durch Einbringen von mindestens einer Nukleinsäure kodierend eine 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Reduktoisomerase und/oder durch Einbringen von mindestens einer Nukleinsäure kodierend eine Isopentenyl-Diphosphat- Δ -Isomerase und/oder durch Einbringen von mindestens einer Nukleinsäure kodierend eine Geranyl-Diphosphat-Synthase und/oder durch Einbringen von mindestens einer Nukleinsäure kodierend eine Farnesyl-Diphosphat-Synthase und/oder durch Einbringen von mindestens einer Nukleinsäure kodierend eine Geranyl-geranyl-Diphosphat-Synthase und/oder durch Einbringen von mindestens einer Nukleinsäure kodierend eine Phytoen-Synthase und/oder durch Einbringen von mindestens einer Nukleinsäure kodierend eine Phytoen-Desaturase und/oder durch Einbringen von mindestens einer Nukleinsäure kodierend eine Zeta-Carotin-Desaturase und/oder durch Einbringen von mindestens einer Nukleinsäure kodierend ein crtISO-Protein und/oder durch Einbringen von mindestens einer Nukleinsäure kodierend ein FtsZ-Protein und/oder durch Einbringen von mindestens einer Nukleinsäure kodierend ein MinD-Protein.

tens einer Nukleinsäure kodierend ein MinD-Protein in die Pflanze.

Dazu kann prinzipiell jedes HMG-CoA-Reduktase-Gen bzw. (E)-4-Hydroxy-3-Methylbut-2-enyl-Diphosphat-Reduktase-Gen bzw. 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-

- 5 Synthase-Gen bzw. 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Reduktoisomerase-Gen bzw. Isopentenyl-Diphosphat-
Δ-Isomerase-Gen bzw. Geranyl-Diphosphat-Synthase-Gen bzw. Farnesyl-Diphosphat-
Synthase-Gen bzw. Geranyl-geranyl-Diphosphat-Synthase-Gen bzw. Phytoen-
Synthase-Gen bzw. Phytoen-Desaturase-Gen bzw. Zeta-Carotin-Desaturase-Gen bzw.
10 crtISO-Gen bzw. FtsZ-Gen bzw. MinD-Gen verwendet werden.

Bei genomischen HMG-CoA-Reduktase-Sequenzen bzw. (E)-4-Hydroxy-3-Methylbut-2-enyl-Diphosphat-Reduktase-Sequenzen bzw. 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Synthase-Sequenzen bzw. 1-Deoxy-D-Xylose-

- 15 5-Phosphat-Reduktoisomerase-Sequenzen bzw. Isopentenyl-Diphosphat-Δ-Isomerase-
Sequenzen bzw. Geranyl-Diphosphat-Synthase-Sequenzen bzw. Farnesyl-Diphosphat-
Synthase-Sequenzen bzw. Geranyl-geranyl-Diphosphat-Synthase-Sequenzen bzw.
Phytoen-Synthase-Sequenzen bzw. Phytoen-Desaturase-Sequenzen bzw. Zeta-
Carotin-Desaturase-Sequenzen bzw. crtISO-Sequenzen bzw. FtsZ-Sequenzen bzw.
20 MinD-Sequenzen aus eukaryontischen Quellen, die Introns enthalten, sind für den Fall
das die Wirtspflanze nicht in der Lage ist oder nicht in die Lage versetzt werden kann,
die entsprechenden Proteine zu exprimieren, bevorzugt bereits prozessierte Nuklein-
säuresequenzen, wie die entsprechenden cDNAs zu verwenden.

- 25 In den erfindungsgemäßen bevorzugten transgenen Organismen liegt also in dieser
bevorzugten Ausführungsform gegenüber dem Wildtyp mindestens ein weiteres HMG-
CoA-Reduktase-Gen und/oder (E)-4-Hydroxy-3-Methylbut-2-enyl-Diphosphat-
Reduktase-Gen und/oder 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Synthase-Gen und/oder 1-
Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Reduktoisomerase-Gen und/oder Isopentenyl-
30 Diphosphat-Δ-Isomerase-Gen und/oder Geranyl-Diphosphat-Synthase-Gen und/oder
Farnesyl-Diphosphat-Synthase-Gen und/oder Geranyl-geranyl-Diphosphat-Synthase-
Gen und/oder Phytoen-Synthase-Gen und/oder Phytoen-Desaturase-Gen und/oder
Zeta-Carotin-Desaturase-Gen und/oder crtISO-Gen und/oder FtsZ-Gen und/oder
MinD-Gen vor.

- 35 In dieser bevorzugten Ausführungsform weist die genetisch veränderte Pflanze bei-
spielsweise mindestens eine exogene Nukleinsäure, kodierend eine HMG-CoA-
Reduktase oder mindestens zwei endogene Nukleinsäuren, kodierend eine HMG-CoA-
Reduktase und/oder mindestens eine exogene Nukleinsäure, kodierend eine (E)-4-
40 Hydroxy-3-Methylbut-2-enyl-Diphosphat-Reduktase oder mindestens zwei endogene

- Nukleinsäuren, kodierend eine (E)-4-Hydroxy-3-Methylbut-2-enyl-Diphosphat-Reduktase und/oder mindestens eine exogene Nukleinsäure, kodierend eine 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Synthase oder mindestens zwei endogene Nukleinsäuren, kodierend eine 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Synthase und/oder mindestens eine exogene Nukleinsäure, kodierend eine 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Reduktoisomerase oder mindestens zwei endogene Nukleinsäuren, kodierend eine 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Reduktoisomerase und/oder mindestens eine exogene Nukleinsäure, kodierend eine Isopentenyl-Diphosphat- Δ -Isomerase oder mindestens zwei endogene Nukleinsäuren, kodierend eine Isopentenyl-Diphosphat- Δ -Isomerase und/oder mindestens eine exogene Nukleinsäure, kodierend eine Geranyl-Diphosphat-Synthase oder mindestens zwei endogene Nukleinsäuren, kodierend eine Geranyl-Diphosphat-Synthase und/oder mindestens eine exogene Nukleinsäure, kodierend eine Farnesyl-Diphosphat-Synthase oder mindestens zwei endogene Nukleinsäuren, kodierend eine Farnesyl-Diphosphat-Synthase und/oder mindestens eine exogene Nukleinsäure, kodierend eine Geranyl-geranyl-Diphosphat-Synthase oder mindestens zwei endogene Nukleinsäuren, kodierend eine Geranyl-geranyl-Diphosphat-Synthase und/oder mindestens eine exogene Nukleinsäure, kodierend eine Phytoen-Synthase oder mindestens zwei endogene Nukleinsäuren, kodierend eine Phytoen-Synthase und/oder mindestens eine exogene Nukleinsäure, kodierend eine Phytoen-Desaturase oder mindestens zwei endogene Nukleinsäuren, kodierend eine Phytoen-Desaturase und/oder mindestens eine exogene Nukleinsäure, kodierend eine Zeta-Carotin-Desaturase oder mindestens zwei endogene Nukleinsäuren, kodierend eine Zeta-Carotin-Desaturase und/oder mindestens eine exogene Nukleinsäure, kodierend ein crtISO-Protein oder mindestens zwei endogene Nukleinsäuren, kodierend ein crtISO-Protein und/oder mindestens eine exogene Nukleinsäure, kodierend ein FtsZ-Protein oder mindestens zwei endogene Nukleinsäuren, kodierend eine FtsZ-Protein und/oder mindestens eine exogene Nukleinsäure, kodierend ein MinD-Protein oder mindestens zwei endogene Nukleinsäuren, kodierend ein MinD-Protein auf.

Beispiele für HMG-CoA-Reduktase-Gene sind:

Eine Nukleinsäure, kodierend eine HMG-CoA-Reduktase aus *Arabidopsis thaliana*, Accession NM_106299; (Nukleinsäure: SEQ ID NO: 7, Protein: SEQ ID NO: 8),

sowie weitere HMG-CoA-Reduktase -Gene aus anderen Organismen mit den folgenden Accession Nummern:

P54961, P54870, P54868, P54869, O02734, P22791, P54873, P54871, P23228, P13704, P54872, Q01581, P17425, P54874, P54839, P14891, P34135, O64966, P29057, P48019, P48020, P12683, P43256, Q9XEL8, P34136, O64967, P29058,

P48022, Q41437, P12684, Q00583, Q9XHL5, Q41438, Q9YAS4, O76819, O28538,
Q9Y7D2, P54960, O51628, P48021, Q03163, P00347, P14773, Q12577, Q59468,
P04035, O24594, P09610, Q58116, O26662, Q01237, Q01559, Q12649, O74164,
O59469, P51639, Q10283, O08424, P20715, P13703, P13702, Q96UG4, Q8SQZ9,
5 O15888, Q9TUM4, P93514, Q39628, P93081, P93080, Q944T9, Q40148, Q84MM0,
Q84LS3, Q9Z9N4, Q9KLM0

Beispiele für (E)-4-Hydroxy-3-Methylbut-2-enyl-Diphosphat-Reduktase-Gene sind:

10 Eine Nukleinsäure, kodierend eine (E)-4-Hydroxy-3-Methylbut-
2-enyl-Diphosphat-Reduktase aus *Arabidopsis thaliana* (lytB/ISPH), ACCESSION
AY168881, (Nukleinsäure: SEQ ID NO: 9, Protein: SEQ ID NO:102),

15 sowie weitere (E)-4-Hydroxy-3-Methylbut-2-enyl-Diphosphat-Reduktase -Gene aus
anderen Organismen mit den folgenden Accession Nummern:

T04781, AF270978_1, NP_485028.1, NP_442089.1, NP_681832.1, ZP_00110421.1,
ZP_00071594.1, ZP_00114706.1, ISPH_SYN3, ZP_00114087.1, ZP_00104269.1,
AF398145_1, AF398146_1, AAD55762.1, AF514843_1, NP_622970.1, NP_348471.1,
20 NP_562001.1, NP_223698.1, NP_781941.1, ZP_00080042.1, NP_859669.1,
NP_214191.1, ZP_00086191.1, ISPH_VIBCH, NP_230334.1, NP_742768.1,
NP_302306.1, ISPH_MYCLE, NP_602581.1, ZP_00026966.1, NP_520563.1,
NP_253247.1, NP_282047.1, ZP_00038210.1, ZP_00064913.1, CAA61555.1,
ZP_00125365.1, ISPH_ACICA, EAA24703.1, ZP_00013067.1, ZP_00029164.1,
25 NP_790656.1, NP_217899.1, NP_641592.1, NP_636532.1, NP_719076.1,
NP_660497.1, NP_422155.1, NP_715446.1, ZP_00090692.1, NP_759496.1,
ISPH_BURPS, ZP_00129657.1, NP_215626.1, NP_335584.1, ZP_00135016.1,
NP_789585.1, NP_787770.1, NP_769647.1, ZP_00043336.1, NP_242248.1,
ZP_00008555.1, NP_246603.1, ZP_00030951.1, NP_670994.1, NP_404120.1,
30 NP_540376.1, NP_733653.1, NP_697503.1, NP_840730.1, NP_274828.1,
NP_796916.1, ZP_00123390.1, NP_824386.1, NP_737689.1, ZP_00021222.1,
NP_757521.1, NP_390395.1, ZP_00133322.1, CAD76178.1, NP_600249.1,
NP_454660.1, NP_712601.1, NP_385018.1, NP_751989.1

35 Beispiele für 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Synthase -Gene sind:

Eine Nukleinsäure, kodierend eine 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Synthase aus *Lyco-*
persicon esculentum, ACCESSION #AF143812 (Nukleinsäure: SEQ ID NO:103 ,
Protein: SEQ ID NO: 12),

sowie weitere 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Synthase –Gene aus anderen Organismen mit den folgenden Accession Nummern:

- AF143812_1, DXS_CAPAN, CAD22530.1, AF182286_1, NP_193291.1, T52289,
AAC49368.1, AAP14353.1, D71420, DXS_ORYSA, AF443590_1, BAB02345.1,
5 CAA09804.2, NP_850620.1, CAD22155.2, AAM65798.1, NP_566686.1, CAD22531.1,
AAC33513.1, CAC08458.1, AAG10432.1, T08140, AAP14354.1, AF428463_1,
ZP_00010537.1, NP_769291.1, AAK59424.1, NP_107784.1, NP_697464.1,
NP_540415.1, NP_196699.1, NP_384986.1, ZP_00096461.1, ZP_00013656.1,
NP_353769.1, BAA83576.1, ZP_00005919.1, ZP_00006273.1, NP_420871.1;
10 AAM48660.1, DXS_RHOCA, ZP_00045608.1, ZP_00031686.1, NP_841218.1,
ZP_00022174.1, ZP_00086851.1, NP_742690.1, NP_520342.1, ZP_00082120.1,
NP_790545.1, ZP_00125266.1, CAC17468.1, NP_252733.1, ZP_00092466.1,
NP_439591.1, NP_414954.1, NP_752465.1, NP_622918.1, NP_286162.1,
NP_836085.1, NP_706308.1, ZP_00081148.1, NP_797065.1, NP_213598.1,
15 NP_245469.1, ZP_00075029.1, NP_455016.1, NP_230536.1, NP_459417.1,
NP_274863.1, NP_283402.1, NP_759318.1, NP_406652.1, DXS_SYNLE,
DXS_SYNP7, NP_440409.1, ZP_00067331.1, ZP_00122853.1, NP_717142.1,
ZP_00104889.1, NP_243645.1, NP_681412.1, DXS_SYNEL, NP_637787.1,
DXS_CHLTE, ZP_00129863.1, NP_661241.1, DXS_XANCP, NP_470738.1,
20 NP_484643.1, ZP_00108360.1, NP_833890.1, NP_846629.1, NP_658213.1,
NP_642879.1, ZP_00039479.1, ZP_00060584.1, ZP_00041364.1, ZP_00117779.1,
NP_299528.1

Beispiele für 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Reduktoisomerase-Gene sind:

- 25 Eine Nukleinsäure, kodierend eine 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Reduktoisomerase
aus *Arabidopsis thaliana*, ACCESSION #AF148852, (Nukleinsäure: SEQ ID NO: 13 ,
Protein: SEQ ID NO: 14),

- sowie weitere 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Reduktoisomerase–Gene aus anderen
30 Organismen mit den folgenden Accession Nummern:

- AF148852, AY084775, AY054682, AY050802, AY045634, AY081453, AY091405,
AY098952, AJ242588, AB009053, AY202991, NP_201085.1, T52570, AF331705_1,
BAB16915.1, AF367205_1, AF250235_1, CAC03581.1, CAD22156.1, AF182287_1,
35 DXR_MENPI, ZP_00071219.1, NP_488391.1, ZP_00111307.1, DXR_SYNLE,
AAP56260.1, NP_681831.1, NP_442113.1, ZP_00115071.1, ZP_00105106.1,
ZP_00113484.1, NP_833540.1, NP_657789.1, NP_661031.1, DXR_BACHD,
NP_833080.1, NP_845693.1, NP_562610.1, NP_623020.1, NP_810915.1,
NP_243287.1, ZP_00118743.1, NP_464842.1, NP_470690.1, ZP_00082201.1,
40 NP_781898.1, ZP_00123667.1, NP_348420.1, NP_604221.1, ZP_00053349.1,

ZP_00064941.1, NP_246927.1, NP_389537.1, ZP_00102576.1, NP_519531.1,
AF124757_19, DXR_ZYMMO, NP_713472.1, NP_459225.1, NP_454827.1,
ZP_00045738.1, NP_743754.1, DXR_PSEPK, ZP_00130352.1, NP_702530.1,
NP_841744.1, NP_438967.1, AF514841_1, NP_706118.1, ZP_00125845.1,
5 NP_404661.1, NP_285867.1, NP_240064.1, NP_414715.1, ZP_00094058.1,
NP_791365.1, ZP_00012448.1, ZP_00015132.1, ZP_00091545.1, NP_629822.1,
NP_771495.1, NP_798691.1, NP_231885.1, NP_252340.1, ZP_00022353.1,
NP_355549.1, NP_420724.1, ZP_00085169.1, EAA17616.1, NP_273242.1,
NP_219574.1, NP_387094.1, NP_296721.1, ZP_00004209.1, NP_823739.1,
10 NP_282934.1, BAA77848.1, NP_660577.1, NP_760741.1, NP_641750.1,
NP_636741.1, NP_829309.1, NP_298338.1, NP_444964.1, NP_717246.1,
NP_224545.1, ZP_00038451.1, DXR_KITGR, NP_778563.1.

Beispiele für Isopentenyl-Diphosphat-Δ-Isomerase-Gene sind:

15 Eine Nukleinsäure, kodierend eine Isopentenyl-Diphosphat-Δ-Isomerase aus Adonis palaestina clone ApiPI28, (ipiAa1), ACCESSION #AF188060, veröffentlicht durch Cunningham,F.X. Jr. and Gantt,E.: Identification of multi-gene families encoding isopentenyl diphosphate isomerase in plants by heterologous complementation in Escherichia coli, Plant Cell Physiol. 41 (1), 119-123 (2000) (Nukleinsäure: SEQ ID NO: 15, Protein: SEQ ID NO: 16),

sowie weitere Isopentenyl-Diphosphat-Δ-Isomerase-Gene aus anderen Organismen mit den folgenden Accession Nummern:

25 Q38929, O48964, Q39472, Q13907, O35586, P58044, O42641, O35760, Q10132,
P15496, Q9YB30, Q8YNH4, Q42553, O27997, P50740, O51627, O48965, Q8KFR5,
Q39471, Q39664, Q9RVE2, Q01335, Q9HHE4, Q9BXS1, Q9KWF6, Q9CIF5,
Q88WB6, Q92BX2, Q8Y7A5, Q8TT35, Q9KK75, Q8NN99, Q8XD58, Q8FE75,
30 Q46822, Q9HP40, P72002, P26173, Q9Z5D3, Q8Z3X9, Q8ZM82, Q9X7Q6, O13504,
Q9HFW8, Q8NJL9, Q9UUQ1, Q9NH02, Q9M6K9, Q9M6K5, Q9FXR6, O81691,
Q9S7C4, Q8S3L8, Q9M592, Q9M6K3, Q9M6K7, Q9FV48, Q9LLB6, Q9AVJ1,
Q9AVG8, Q9M6K6, Q9AVJ5, Q9M6K2, Q9AYS5, Q9M6K8, Q9AVG7, Q8S3L7,
Q8W250, Q94IE1, Q9AVI8, Q9AYS6, Q9SAY0, Q9M6K4, Q8GVZ0, Q84RZ8,
35 Q8KZ12, Q8KZ66, Q8FND7, Q88QC9, Q8BFZ6, BAC26382, CAD94476.

Beispiele für Geranyl-Diphosphat-Synthase -Gene sind:

40 Eine Nukleinsäure, kodierend eine Geranyl-Diphosphat-Synthase aus Arabidopsis thaliana, ACCESSION #Y17376, Bouvier,F., Suire,C., d'Harlingue,A., Backhaus,R.A. and

Camara,B.; Molecular cloning of geranyl diphosphate synthase and compartmentation of monoterpene synthesis in plant cells, Plant J. 24 (2), 241-252 (2000) (Nukleinsäure: SEQ ID NO: 17, Protein: SEQ ID NO: 18),

- 5 sowie weitere Geranyl-Diphosphat-Synthase-Gene aus anderen Organismen mit den folgenden Accession Nummern:

Q9FT89, Q8LKJ2, Q9FSW8, Q8LKJ3, Q9SBR3, Q9SBR4, Q9FET8, Q8LKJ1, Q84LG1, Q9JK86

10

Beispiele für Farnesyl-Diphosphat-Synthase-Gene sind:

- Eine Nukleinsäure, kodierend eine Farnesyl-Diphosphat-Synthase aus *Arabidopsis thaliana* (FPS1), ACCESSION #U80605, veröffentlicht durch Cunillera,N., Arro,M., Delourme,D., Karst,F., Boronat,A. und Ferrer,A.: *Arabidopsis thaliana contains two differentially expressed farnesyl-diphosphate synthase genes*, J. Biol. Chem. 271 (13), 7774-7780 (1996), (Nukleinsäure: SEQ ID NO: 19, Protein: SEQ ID NO:112),

- 15 sowie weitere Farnesyl-Diphosphat-Synthase-Gene aus anderen Organismen mit den folgenden Accession Nummern:

P53799, P37268, Q02769, Q09152, P49351, O24241, Q43315, P49352, O24242, P49350, P08836, P14324, P49349, P08524, O66952, Q08291, P54383, Q45220, P57537, Q8K9A0, P22939, P45204, O66126, P55539, Q9SWH9, Q9AVI7, Q9FRX2, 25 Q9AYS7, Q94IE8, Q9FXR9, Q9ZWF6, Q9FXR8, Q9AR37, O50009, Q94IE9, Q8RVK7, Q8RVQ7, O04882, Q93RA8, Q93RB0, Q93RB4, Q93RB5, Q93RB3, Q93RB1, Q93RB2, Q920E5.

30

Beispiele für Geranyl-geranyl-Diphosphat-Synthase -Gene sind:

Eine Nukleinsäure, kodierend eine Geranyl-geranyl-Diphosphat-Synthase aus *Sinaps alba*, ACCESSION #X98795, veröffentlicht durch Bonk,M., Hoffmann,B., Von Lintig,J., Schledz,M., Al-Babili,S., Hobeika,E., Kleinig,H. and Beyer,P.: Chloroplast import of four carotenoid biosynthetic enzymes in vitro reveals differential fates prior to membrane binding and oligomeric assembly, Eur. J. Biochem. 247 (3), 942-950 (1997), (Nukleinsäure: SEQ ID NO: 21, Protein: SEQ ID NO:114),

sowie weitere Geranyl-geranyl-Diphosphat-Synthase-Gene aus anderen Organismen mit den folgenden Accession Nummern:

40

P22873, P34802, P56966, P80042, Q42698, Q92236, O95749, Q9WTN0, Q50727,
P24322, P39464, Q9FXR3, Q9AYN2, Q9FXR2, Q9AVG6, Q9FRW4, Q9SXZ5,
Q9AVJ7, Q9AYN1, Q9AVJ4, Q9FXR7, Q8LSC5, Q9AVJ6, Q8LSC4, Q9AVJ3,
Q9SSU0, Q9SXZ6, Q9SST9, Q9AVJ0, Q9AVI9, Q9FRW3, Q9FXR5, Q94IF0,
5 Q9FRX1, Q9K567, Q93RA9, Q93QX8, CAD95619, EAA31459

Beispiele für Phytoen-Synthase-Gene sind:

- 10 Eine Nukleinsäure, kodierend eine Phytoen-Synthase aus *Erwinia uredovora*, ACCES-
SION # D90087; veröffentlicht durch Misawa,N., Nakagawa,M., Kobayashi,K., Yama-
no,S., Izawa,Y., Nakamura,K. und Harashima,K.: Elucidation of the *Erwinia uredovora*
carotenoid biosynthetic pathway by functional analysis of gene products expressed in
Escherichia coli; J. Bacteriol. 172 (12), 6704-6712 (1990), (Nukleinsäure: SEQ ID NO:
23, Protein: SEQ ID NO: 24),
15 sowie weitere Phytoen-Synthase –Gene aus anderen Organismen mit den folgenden
Accession Nummern:

20 CAB39693, BAC69364, AAF10440, CAA45350, BAA20384, AAM72615, BAC09112,
CAA48922, P_001091, CAB84588, AAF41518, CAA48155, AAD38051, AAF33237,
AAG10427, AAA34187, BAB73532, CAC19567, AAM62787, CAA55391, AAB65697,
AAM45379, CAC27383, AAA32836, AAK07735, BAA84763, P_000205, AAB60314,
P_001163, P_000718, AAB71428, AAA34153, AAK07734, CAA42969, CAD76176,
CAA68575, P_000130, P_001142, CAA47625, CAA85775, BAC14416, CAA79957,
25 BAC76563, P_000242, P_000551, AAL02001, AAK15621, CAB94795, AAA91951,
P_000448

Beispiele für Phytoen-Desaturase-Gene sind:

- 30 Eine Nukleinsäure, kodierend eine Phytoen-Desaturase aus *Erwinia uredovora*, AC-
CESSION # D90087; veröffentlicht durch Misawa,N., Nakagawa,M., Kobayashi,K.,
Yamano,S., Izawa,Y., Nakamura,K. und Harashima,K.: Elucidation of the *Erwinia ure-
dovora* carotenoid biosynthetic pathway by functional analysis of gene products ex-
pressed in Escherichia coli; J. Bacteriol. 172 (12), 6704-6712 (1990), (Nukleinsäure:
35 SEQ ID NO: 25, Protein: SEQ ID NO: 26),

sowie weitere Phytoen-Desaturase –Gene aus anderen Organismen mit den folgenden
Accession Nummern:

AAL15300, A39597, CAA42573, AAK51545, BAB08179, CAA48195, BAB82461,
AAK92625, CAA55392, AAG10426, AAD02489, AAO24235, AAC12846, AAA99519,
AAL38046, CAA60479, CAA75094, ZP_001041, ZP_001163, CAA39004, CAA44452,
ZP_001142, ZP_000718, BAB82462, AAM45380, CAB56040, ZP_001091, BAC09113,
5 AAP79175, AAL80005, AAM72642, AAM72043, ZP_000745, ZP_001141, BAC07889,
CAD55814, ZP_001041, CAD27442, CAE00192, ZP_001163, ZP_000197, BAA18400,
AAG10425, ZP_001119, AAF13698, 2121278A, AAB35386, AAD02462, BAB68552,
CAC85667, AAK51557, CAA12062, AAG51402, AAM63349, AAF85796, BAB74081,
AAA91161, CAB56041, AAC48983, AAG14399, CAB65434, BAB73487, ZP_001117,
10 ZP_000448, CAB39695, CAD76175, BAC69363, BAA17934, ZP_000171, AAF65586,
ZP_000748, BAC07074, ZP_001133, CAA64853, BAB74484, ZP_001156, AAF23289,
AAG28703, AAP09348, AAM71569, BAB69140, ZP_000130, AAF41516, AAG18866,
CAD95940, NP_656310, AAG10645, ZP_000276, ZP_000192, ZP_000186,
AAM94364, EAA31371, ZP_000612, BAC75676, AAF65582

15

Beispiele für Zeta-Carotin-Desaturase-Gene sind:

Eine Nukleinsäure, kodierend eine Zeta-Carotin-Desaturase aus *Narcissus pseudonarcissus*, ACCESSION #AJ224683, veröffentlicht durch Al-Babili,S., Oelschlegel,J. and
20 Beyer,P.: A cDNA encoding for beta carotene desaturase (Accession No.AJ224683) from *Narcissus pseudonarcissus L.* (PGR98-103), Plant Physiol. 117, 719-719 (1998), (Nukleinsäure: SEQ ID NO: 119, Protein: SEQ ID NO: 28),

25 sowie weitere Zeta-Carotin-Desaturase-Gene aus anderen Organismen mit den folgenden Accession Nummern:

Q9R6X4, Q38893, Q9SMJ3, Q9SE20, Q9ZTP4, O49901, P74306, Q9FV46, Q9RCT2,
ZDS_NARPS, BAB68552.1, CAC85667.1, AF372617_1, ZDS_TARER, CAD55814.1,
30 CAD27442.1, 2121278A, ZDS_CAPAN, ZDS_LYCES, NP_187138.1, AAM63349.1,
ZDS_ARATH, AAA91161.1, ZDS_MAIZE, AAG14399.1, NP_441720.1, NP_486422.1,
ZP_00111920.1, CAB56041.1, ZP_00074512.1, ZP_00116357.1, NP_681127.1,
ZP_00114185.1, ZP_00104126.1, CAB65434.1, NP_662300.1

35

Beispiele für crtISO-Gene sind:

Eine Nukleinsäure, kodierend eine crtISO aus *Lycopersicon esculentum*; ACCESSION #AF416727, veröffentlicht durch Isaacson,T., Ronen,G., Zamir,D. and Hirschberg,J.: Cloning of tangerine from tomato reveals a carotenoid isomerase essential for the production of beta-carotene and xanthophylls in plants; Plant Cell 14 (2), 333-342 (2002),

(Nukleinsäure: SEQ ID NO: 29, Protein: SEQ ID NO:122),

sowie weitere crtISO -Gene aus anderen Organismen mit den folgenden Accession Nummern:

5

AAM53952

Beispiele für FtsZ-Gene sind:

- 10 Eine Nukleinsäure, kodierend eine FtsZ aus *Tagetes erecta*, ACCESSION #AF251346, veröffentlicht durch Moehs,C.P., Tian,L., Osteryoung,K.W. and Dellapenna,D.: Analysis of carotenoid biosynthetic gene expression during marigold petal development Plant Mol. Biol. 45 (3), 281-293 (2001), (Nukleinsäure: SEQ ID NO: 31, Protein: SEQ ID NO: 32),

15

sowie weitere FtsZ -Gene aus anderen Organismen mit den folgenden Accession Nummern:

CAB89286.1, AF205858_1, NP_200339.1, CAB89287.1, CAB41987.1, AAA82068.1,
20 T06774,AF383876_1, BAC57986.1, CAD22047.1, BAB91150.1, ZP_00072546.1,
NP_440816.1, T51092, NP_683172.1, BAA85116.1, NP_487898.1, JC4289,
BAA82871.1, NP_781763.1, BAC57987.1, ZP_00111461.1, T51088, NP_190843.1,
ZP_00060035.1, NP_846285.1, AAL07180.1, NP_243424.1, NP_833626.1,
AAN04561.1, AAN04557.1, CAD22048.1, T51089, NP_692394.1, NP_623237.1,
25 NP_565839.1, T51090, CAA07676.1, NP_113397.1, T51087, CAC44257.1, E84778,
ZP_00105267.1, BAA82091.1, ZP_00112790.1, BAA96782.1, NP_348319.1,
NP_471472.1, ZP_00115870.1, NP_465556.1, NP_389412.1, BAA82090.1,
NP_562681.1, AAM22891.1, NP_371710.1, NP_764416.1, CAB95028.1,
FTSZ_STRGR, AF120117_1, NP_827300.1, JE0282, NP_626341.1, AAC45639.1,
30 NP_785689.1, NP_336679.1, NP_738660.1, ZP_00057764.1, AAC32265.1,
NP_814733.1, FTSZ_MYCKA, NP_216666.1, CAA75616.1, NP_301700.1,
NP_601357.1, ZP_00046269.1, CAA70158.1, ZP_00037834.1, NP_268026.1,
FTSZ_ENTHR, NP_787643.1, NP_346105.1, AAC32264.1, JC5548, AAC95440.1,
NP_710793.1, NP_687509.1, NP_269594.1, AAC32266.1, NP_720988.1,
35 NP_657875.1, ZP_00094865.1, ZP_00080499.1, ZP_00043589.1, JC7087,
NP_660559.1, AAC46069.1, AF179611_14, AAC44223.1, NP_404201.1.

Beispiele für MinD -Gene sind:

Eine Nukleinsäure, kodierend eine MinD aus *Tagetes erecta*, ACCESSION #AF251019, veröffentlicht durch Moehs,C.P., Tian,L., Osteryoung,K.W. und Dellapenna,D.: Analysis of carotenoid biosynthetic gene expression during marigold petal development; Plant Mol. Biol. 45 (3), 281-293 (2001), (Nukleinsäure: SEQ ID NO: 33, Protein: SEQ ID NO: 34),

sowie weitere MinD -Gene mit den folgenden Accession Nummern:

- NP_197790.1, BAA90628.1, NP_038435.1, NP_045875.1, AAN33031.1,
10 NP_050910.1, CAB53105.1, NP_050687.1, NP_682807.1, NP_487496.1,
ZP_00111708.1, ZP_00071109.1, NP_442592.1, NP_603083.1, NP_782631.1,
ZP_00097367.1, ZP_00104319.1, NP_294476.1, NP_622555.1, NP_563054.1,
NP_347881.1, ZP_00113908.1, NP_834154.1, NP_658480.1, ZP_00059858.1,
NP_470915.1, NP_243893.1, NP_465069.1, ZP_00116155.1, NP_390677.1,
15 NP_692970.1, NP_298610.1, NP_207129.1, ZP_00038874.1, NP_778791.1,
NP_223033.1, NP_641561.1, NP_636499.1, ZP_00088714.1, NP_213595.1,
NP_743889.1, NP_231594.1, ZP_00085067.1, NP_797252.1, ZP_00136593.1,
NP_251934.1, NP_405629.1, NP_759144.1, ZP_00102939.1, NP_793645.1,
NP_699517.1, NP_460771.1, NP_860754.1, NP_456322.1, NP_718163.1,
20 NP_229666.1, NP_357356.1, NP_541904.1, NP_287414.1, NP_660660.1,
ZP_00128273.1, NP_103411.1, NP_785789.1, NP_715361.1, AF149810_1,
NP_841854.1, NP_437893.1, ZP_00022726.1, EAA24844.1, ZP_00029547.1,
NP_521484.1, NP_240148.1, NP_770852.1, AF345908_2, NP_777923.1,
ZP_00048879.1, NP_579340.1, NP_143455.1, NP_126254.1, NP_142573.1,
25 NP_613505.1, NP_127112.1, NP_712786.1, NP_578214.1, NP_069530.1,
NP_247526.1, AAA85593.1, NP_212403.1, NP_782258.1, ZP_00058694.1,
NP_247137.1, NP_219149.1, NP_276946.1, NP_614522.1, ZP_00019288.1,
CAD78330.1

30 Bevorzugt verwendet man in vorstehend beschriebener bevorzugter Ausführungsform als HMG-CoA-Reduktase-Gene Nukleinsäuren, die Proteine kodieren, enthaltend die Aminosäuresequenz SEQ ID NO: 8 oder eine von dieser Sequenz durch Substitution, Insertion oder Deletion von Aminosäuren abgeleitete Sequenz, die eine Identität von mindestens 30 %, vorzugsweise mindestens 50 %, bevorzugter mindestens 70 %,
35 noch bevorzugter mindestens 90 %, am bevorzugtesten mindestens 95 % auf Aminosäureebene mit der Sequenz SEQ ID NO: 8, und die die enzymatische Eigenschaft einer HMG-CoA-Reduktase aufweisen.

Weitere Beispiele für HMG-CoA-Reduktasen und HMG-CoA-Reduktase-Gene lassen sich beispielsweise aus verschiedenen Organismen, deren genomische Sequenz
40

bekannt ist, wie vorstehend beschrieben, durch Homologievergleiche der Aminosäuresequenzen oder der entsprechenden rückübersetzten Nukleinsäuresequenzen aus Datenbanken mit der SeQ ID NO: 8 leicht auffinden.

- 5 Weitere Beispiele für HMG-CoA-Reduktasen und HMG-CoA-Reduktase-Gene lassen sich weiterhin beispielsweise ausgehend von der Sequenz SEQ ID NO: 7 aus verschiedenen Organismen deren genomische Sequenz nicht bekannt ist, wie vorstehend beschrieben, durch Hybridisierungs- und PCR-Techniken in an sich bekannter Weise leicht auffinden.

10 In einer weiter besonders bevorzugten Ausführungsform werden zur Erhöhung der HMG-CoA-Reduktase-Aktivität Nukleinsäuren in Organismen eingebracht, die Proteine kodieren, enthaltend die Aminosäuresequenz der HMG-CoA-Reduktase der Sequenz SEQ ID NO: 8.

15 Geeignete Nukleinsäuresequenzen sind beispielsweise durch Rückübersetzung der Polypeptidsequenz gemäß dem genetischen Code erhältlich.

20 Bevorzugt werden dafür solche Codons verwendet, die entsprechend der Organismenspezifischen codon usage häufig verwendet werden. Die codon usage lässt sich anhand von Computerauswertungen anderer, bekannter Gene der betreffenden Organismen leicht ermitteln.

25 In einer besonders bevorzugten Ausführungsform bringt man eine Nukleinsäure, enthaltend die Sequenz SEQ ID NO: 7 in den Organismus ein.

30 Bevorzugt verwendet man in vorstehend beschriebener bevorzugter Ausführungsform als (E)-4-Hydroxy-3-Methylbut-2-enyl-Diphosphat-Reduktase-Gene Nukleinsäuren, die Proteine kodieren, enthaltend die Aminosäuresequenz SEQ ID NO: 10 oder eine von dieser Sequenz durch Substitution, Insertion oder Deletion von Aminosäuren abgeleitete Sequenz, die eine Identität von mindestens 30 %, vorzugsweise mindestens 50 %, bevorzugter mindestens 70%, noch bevorzugter mindestens 90 %, am bevorzugtesten mindestens 95 % auf Aminosäureebene mit der Sequenz SEQ ID NO: 10, und die die enzymatische Eigenschaft einer (E)-4-Hydroxy-3-Methylbut-2-enyl-Diphosphat-Reduktase aufweisen.

35 Weitere Beispiele für (E)-4-Hydroxy-3-Methylbut-2-enyl-Diphosphat-Reduktasen und (E)-4-Hydroxy-3-Methylbut-2-enyl-Diphosphat-Reduktase-Gene lassen sich beispielsweise aus verschiedenen Organismen, deren genomische Sequenz bekannt ist, wie vorstehend beschrieben, durch Homologievergleiche der Aminosäuresequenzen oder

der entsprechenden rückübersetzten Nukleinsäuresequenzen aus Datenbanken mit der SeQ ID NO: 10 leicht auffinden.

Weitere Beispiele für (E)-4-Hydroxy-3-Methylbut-2-enyl-Diphosphat-Reduktasen und

- 5 (E)-4-Hydroxy-3-Methylbut-2-enyl-Diphosphat-Reduktase-Gene lassen sich weiterhin beispielsweise ausgehend von der Sequenz SEQ ID NO: 9 aus verschiedenen Organismen deren genomische Sequenz nicht bekannt ist, wie vorstehend beschrieben, durch Hybridisierungs- und PCR-Techniken in an sich bekannter Weise leicht auffinden.

10

In einer weiter besonders bevorzugten Ausführungsform werden zur Erhöhung der (E)-4-Hydroxy-3-Methylbut-2-enyl-Diphosphat-Reduktase-Aktivität Nukleinsäuren in Organismen eingebracht, die Proteine kodieren, enthaltend die Aminosäuresequenz der (E)-4-Hydroxy-3-Methylbut-2-enyl-Diphosphat-Reduktase der Sequenz SEQ ID NO: 10.

15

Geeignete Nukleinsäuresequenzen sind beispielsweise durch Rückübersetzung der Polypeptidsequenz gemäß dem genetischen Code erhältlich.

- 20 Bevorzugt werden dafür solche Codons verwendet, die entsprechend der Organismenspezifischen codon usage häufig verwendet werden. Die codon usage lässt sich anhand von Computerauswertungen anderer, bekannter Gene der betreffenden Organismen leicht ermitteln.

- 25 In einer besonders bevorzugten Ausführungsform bringt man eine Nukleinsäure, enthaltend die Sequenz SEQ ID NO: 9 in den Organismus ein.

- 30 Bevorzugt verwendet man in vorstehend beschriebener bevorzugter Ausführungsform als (1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Synthase-Gene Nukleinsäuren, die Proteine kodieren, enthaltend die Aminosäuresequenz SEQ ID NO: 12 oder eine von dieser Sequenz durch Substitution, Insertion oder Deletion von Aminosäuren abgeleitete Sequenz, die eine Identität von mindestens 30 %, vorzugsweise mindestens 50 %, bevorzugter mindestens 70%, noch bevorzugter mindestens 90 %, am bevorzugtesten mindestens 95 % auf Aminosäureebene mit der Sequenz SEQ ID NO: 12, und die die enzymatische Eigenschaft einer (1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Synthase aufweisen.

35

- 40 Weitere Beispiele für (1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Synthasen und (1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Synthase-Gene lassen sich beispielsweise aus verschiedenen Organismen, deren genomische Sequenz bekannt ist, wie vorstehend beschrieben, durch Homologievergleiche der Aminosäuresequenzen oder der entsprechenden rückübersetzten Nukleinsäuresequenzen aus Datenbanken mit der SeQ ID NO: 12 leicht

auffinden.

- Weitere Beispiele für (1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Synthasen und (1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Synthase–Gene lassen sich weiterhin beispielsweise ausgehend
5 von der Sequenz SEQ ID NO: 11 aus verschiedenen Organismen deren genomische Sequenz nicht bekannt ist, wie vorstehend beschrieben, durch Hybridisierungs– und PCR–Techniken in an sich bekannter Weise leicht auffinden.

- In einer weiter besonders bevorzugten Ausführungsform werden zur Erhöhung der (1-
10 Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Synthase-Aktivität Nukleinsäuren in Organismen einge-
bracht, die Proteine kodieren, enthaltend die Aminosäuresequenz der (1-Deoxy-D-
Xylose-5-Phosphat-Synthase der Sequenz SEQ ID NO: 12.

- Geeignete Nukleinsäuresequenzen sind beispielsweise durch Rückübersetzung der
15 Polypeptidsequenz gemäß dem genetischen Code erhältlich.

- Bevorzugt werden dafür solche Codons verwendet, die entsprechend der Organis-
menspezifischen codon usage häufig verwendet werden. Die codon usage lässt sich
anhand von Computerauswertungen anderer, bekannter Gene der betreffenden Orga-
20 nismen leicht ermitteln.

In einer besonders bevorzugten Ausführungsform bringt man eine Nukleinsäure, ent-
haltend die Sequenz SEQ ID NO: 11 in den Organismus ein.

- 25 Bevorzugt verwendet man in vorstehend beschriebener bevorzugter Ausführungsform
als 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Reduktoisomerase–Gene Nukleinsäuren, die Protei-
ne kodieren, enthaltend die Aminosäuresequenz SEQ ID NO: 14 oder eine von dieser
Sequenz durch Substitution, Insertion oder Deletion von Aminosäuren abgeleitete Se-
quenz, die eine Identität von mindestens 30 %, vorzugsweise mindestens 50 %, bevor-
30 zugter mindestens 70 %, noch bevorzugter mindestens 90 %, am bevorzugtesten min-
destens 95 % auf Aminosäureebene mit der Sequenz SEQ ID NO: 14, und die die en-
zymatische Eigenschaft einer 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Reduktoisomerase auf-
weisen.
- 35 Weitere Beispiele für 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Reduktoisomerasen und 1-Deoxy-
D-Xylose-5-Phosphat-Reduktoisomerase–Gene lassen sich beispielsweise aus ver-
schiedenen Organismen, deren genomische Sequenz bekannt ist, wie vorstehend be-
schrieben, durch Homologievergleiche der Aminosäuresequenzen oder der entspre-
chenden rückübersetzten Nukleinsäuresequenzen aus Datenbanken mit der Seq ID

NO: 14 leicht auffinden.

Weitere Beispiele für 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Reduktoisomerasen und 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Reduktoisomerase–Gene lassen sich weiterhin beispielsweise 5 ausgehend von der Sequenz SEQ ID NO: 13 aus verschiedenen Organismen deren genomische Sequenz nicht bekannt ist, wie vorstehend beschrieben, durch Hybridisierungs– und PCR–Techniken in an sich bekannter Weise leicht auffinden.

In einer weiter besonders bevorzugten Ausführungsform werden zur Erhöhung der 1-10 Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Reduktoisomerase-Aktivität Nukleinsäuren in Organismen eingebracht, die Proteine kodieren, enthaltend die Aminosäuresequenz der 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Reduktoisomerase der Sequenz SEQ ID NO: 14.

Geeignete Nukleinsäuresequenzen sind beispielsweise durch Rückübersetzung der 15 Polypeptidsequenz gemäß dem genetischen Code erhältlich.

Bevorzugt werden dafür solche Codons verwendet, die entsprechend der Organismenspezifischen codon usage häufig verwendet werden. Die codon usage lässt sich anhand von Computerauswertungen anderer, bekannter Gene der betreffenden Organismen leicht ermitteln. 20

In einer besonders bevorzugten Ausführungsform bringt man eine Nukleinsäure, enthaltend die Sequenz SEQ ID NO: 13 in den Organismus ein.

25 Bevorzugt verwendet man in vorstehend beschriebener bevorzugter Ausführungsform als Isopentenyl-D-Isomerase-Gene Nukleinsäuren, die Proteine kodieren, enthaltend die Aminosäuresequenz SEQ ID NO: 16 oder eine von dieser Sequenz durch Substitution, Insertion oder Deletion von Aminosäuren abgeleitete Sequenz, die eine Identität von mindestens 30 %, vorzugsweise mindestens 50 %, bevorzugter mindestens 70 %, 30 noch bevorzugter mindestens 90 %, am bevorzugtesten mindestens 95 % auf Aminosäureebene mit der Sequenz SEQ ID NO: 16, und die die enzymatische Eigenschaft einer Isopentenyl-D-Isomerase aufweisen.

Weitere Beispiele für Isopentenyl-D-Isomerasen und Isopentenyl-D-Isomerase–Gene 35 lassen sich beispielsweise aus verschiedenen Organismen, deren genomische Sequenz bekannt ist, wie vorstehend beschrieben, durch Homologievergleiche der Aminosäuresequenzen oder der entsprechenden rückübersetzten Nukleinsäuresequenzen aus Datenbanken mit der Seq ID NO: 16 leicht auffinden.

Weitere Beispiele für Isopentenyl-D-Isomerasen und Isopentenyl-D-Isomerase—Gene lassen sich weiterhin beispielsweise ausgehend von der Sequenz SEQ ID NO: 15 aus verschiedenen Organismen deren genomische Sequenz nicht bekannt ist, wie vorstehend beschrieben, durch Hybridisierungs- und PCR-Techniken in an sich bekannter Weise leicht auffinden.

In einer weiter besonders bevorzugten Ausführungsform werden zur Erhöhung der Isopentenyl-D-Isomerase-Aktivität Nukleinsäuren in Organismen eingebracht, die Proteine kodieren, enthaltend die Aminosäuresequenz der Isopentenyl-D-Isomerase der Sequenz SEQ ID NO: 16.

Geeignete Nukleinsäuresequenzen sind beispielsweise durch Rückübersetzung der Polypeptidsequenz gemäß dem genetischen Code erhältlich.

Bevorzugt werden dafür solche Codons verwendet, die entsprechend der Organismenspezifischen codon usage häufig verwendet werden. Die codon usage lässt sich anhand von Computerauswertungen anderer, bekannter Gene der betreffenden Organismen leicht ermitteln.

In einer besonders bevorzugten Ausführungsform bringt man eine Nukleinsäure, enthaltend die Sequenz SEQ ID NO: 15 in den Organismus ein.

Bevorzugt verwendet man in vorstehend beschriebener bevorzugter Ausführungsform als Geranyl-Diphosphat-Synthase-Gene Nukleinsäuren, die Proteine kodieren, enthaltend die Aminosäuresequenz SEQ ID NO: 18 oder eine von dieser Sequenz durch Substitution, Insertion oder Deletion von Aminosäuren abgeleitete Sequenz, die eine Identität von mindestens 30 %, vorzugsweise mindestens 50 %, bevorzugter mindestens 70 %, noch bevorzugter mindestens 90 %, am bevorzugtesten mindestens 95 % auf Aminosäureebene mit der Sequenz SEQ ID NO: 18, und die die enzymatische Eigenschaft einer Geranyl-Diphosphat-Synthase aufweisen.

Weitere Beispiele für Geranyl-Diphosphat-Synthasen und Geranyl-Diphosphat-Synthase—Gene lassen sich beispielsweise aus verschiedenen Organismen, deren genomische Sequenz bekannt ist, wie vorstehend beschrieben, durch Homologievergleiche der Aminosäuresequenzen oder der entsprechenden rückübersetzten Nukleinsäuresequenzen aus Datenbanken mit der SeQ ID NO: 18 leicht auffinden.

Weitere Beispiele für Geranyl-Diphosphat-Synthasen und Geranyl-Diphosphat-Synthase—Gene lassen sich weiterhin beispielsweise ausgehend von der Sequenz SEQ ID NO: 17 aus verschiedenen Organismen deren genomische Sequenz nicht be-

kannt ist, wie vorstehend beschrieben, durch Hybridisierungs- und PCR-Techniken in an sich bekannter Weise leicht auffinden.

- In einer weiter besonders bevorzugten Ausführungsform werden zur Erhöhung der
5 Geranyl-Diphosphat-Synthase-Aktivität Nukleinsäuren in Organismen eingebracht, die Proteine kodieren, enthaltend die Aminosäuresequenz der Geranyl-Diphosphat-Synthase der Sequenz SEQ ID NO: 18.

- Geeignete Nukleinsäuresequenzen sind beispielsweise durch Rückübersetzung der
10 Polypeptidsequenz gemäß dem genetischen Code erhältlich.

- Bevorzugt werden dafür solche Codons verwendet, die entsprechend der Organismenspezifischen codon usage häufig verwendet werden. Die codon usage lässt sich anhand von Computerauswertungen anderer, bekannter Gene der betreffenden Organismen leicht ermitteln.
15

In einer besonders bevorzugten Ausführungsform bringt man eine Nukleinsäure, enthaltend die Sequenz SEQ ID NO: 17 in den Organismus ein.

- 20 Bevorzugt verwendet man in vorstehend beschriebener bevorzugter Ausführungsform als Farnesyl-Diphosphat-Synthase-Gene Nukleinsäuren, die Proteine kodieren, enthaltend die Aminosäuresequenz SEQ ID NO: 20 oder eine von dieser Sequenz durch Substitution, Insertion oder Deletion von Aminosäuren abgeleitete Sequenz, die eine Identität von mindestens 30 %, vorzugsweise mindestens 50 %, bevorzugter mindestens 70 %, noch bevorzugter mindestens 90 %, am bevorzugtesten mindestens 95 % auf Aminosäureebene mit der Sequenz SEQ ID NO: 20, und die die enzymatische Eigenschaft einer Farnesyl-Diphosphat-Synthase aufweisen.
25

- Weitere Beispiele für Farnesyl-Diphosphat-Synthasen und Farnesyl-Diphosphat-Synthase-Gene lassen sich beispielsweise aus verschiedenen Organismen, deren 30 genomische Sequenz bekannt ist, wie vorstehend beschrieben, durch Homologievergleiche der Aminosäuresequenzen oder der entsprechenden rückübersetzten Nukleinsäuresequenzen aus Datenbanken mit der SeQ ID NO: 20 leicht auffinden.

- 35 Weitere Beispiele für Farnesyl-Diphosphat-Synthasen und Farnesyl-Diphosphat-Synthase-Gene lassen sich weiterhin beispielsweise ausgehend von der Sequenz SEQ ID NO: 19 aus verschiedenen Organismen deren genomische Sequenz nicht bekannt ist, wie vorstehend beschrieben, durch Hybridisierungs- und PCR-Techniken in an sich bekannter Weise leicht auffinden.

In einer weiter besonders bevorzugten Ausführungsform werden zur Erhöhung der Farnesyl-Diphosphat-Synthase-Aktivität Nukleinsäuren in Organismen eingebracht, die Proteine kodieren, enthaltend die Aminosäuresequenz der Farnesyl-Diphosphat-Synthase der Sequenz SEQ ID NO: 20.

5

Geeignete Nukleinsäuresequenzen sind beispielsweise durch Rückübersetzung der Polypeptidsequenz gemäß dem genetischen Code erhältlich.

Bevorzugt werden dafür solche Codons verwendet, die entsprechend der Organismenspezifischen codon usage häufig verwendet werden. Die codon usage lässt sich anhand von Computerauswertungen anderer, bekannter Gene der betreffenden Organismen leicht ermitteln.

In einer besonders bevorzugten Ausführungsform bringt man eine Nukleinsäure, enthaltend die Sequenz SEQ ID NO: 19 in den Organismus ein.

Bevorzugt verwendet man in vorstehend beschriebener bevorzugter Ausführungsform als Geranyl-geranyl-Diphosphat-Synthase-Gene Nukleinsäuren, die Proteine kodieren, enthaltend die Aminosäuresequenz SEQ ID NO: 22 oder eine von dieser Sequenz durch Substitution, Insertion oder Deletion von Aminosäuren abgeleitete Sequenz, die eine Identität von mindestens 30 %, vorzugsweise mindestens 50 %, bevorzugter mindestens 70 %, noch bevorzugter mindestens 90 %, am bevorzugtesten mindestens 95 % auf Aminosäureebene mit der Sequenz SEQ ID NO: 22, und die die enzymatische Eigenschaft einer Geranyl-geranyl-Diphosphat-Synthase aufweisen.

25

Weitere Beispiele für Geranyl-geranyl-Diphosphat-Synthasen und Geranyl-geranyl-Diphosphat-Synthase-Gene lassen sich beispielsweise aus verschiedenen Organismen, deren genomische Sequenz bekannt ist, wie vorstehend beschrieben, durch Homologievergleiche der Aminosäuresequenzen oder der entsprechenden rückübersetzten Nukleinsäuresequenzen aus Datenbanken mit der Seq ID NO: 22 leicht auffinden.

Weitere Beispiele für Geranyl-geranyl-Diphosphat-Synthasen und Geranyl-geranyl-Diphosphat-Synthase-Gene lassen sich weiterhin beispielsweise ausgehend von der Sequenz SEQ ID NO: 21 aus verschiedenen Organismen deren genomische Sequenz nicht bekannt ist, wie vorstehend beschrieben, durch Hybridisierungs- und PCR-Techniken in an sich bekannter Weise leicht auffinden.

In einer weiter besonders bevorzugten Ausführungsform werden zur Erhöhung der Geranyl-geranyl-Diphosphat-Synthase-Aktivität Nukleinsäuren in Organismen eingebracht, die Proteine kodieren, enthaltend die Aminosäuresequenz der Geranyl-geranyl-

Diphosphat-Synthase der Sequenz SEQ ID NO: 22.

Geeignete Nukleinsäuresequenzen sind beispielsweise durch Rückübersetzung der Polypeptidsequenz gemäß dem genetischen Code erhältlich.

5

Bevorzugt werden dafür solche Codons verwendet, die entsprechend der Organismenspezifischen codon usage häufig verwendet werden. Die codon usage lässt sich anhand von Computerauswertungen anderer, bekannter Gene der betreffenden Organismen leicht ermitteln.

10

In einer besonders bevorzugten Ausführungsform bringt man eine Nukleinsäure, enthaltend die Sequenz SEQ ID NO: 21 in den Organismus ein.

15

Bevorzugt verwendet man in vorstehend beschriebener bevorzugter Ausführungsform als Phytoen-Synthase-Gene Nukleinsäuren, die Proteine kodieren, enthaltend die Aminosäuresequenz SEQ ID NO: 24 oder eine von dieser Sequenz durch Substitution, Insertion oder Deletion von Aminosäuren abgeleitete Sequenz, die eine Identität von mindestens 30 %, vorzugsweise mindestens 50 %, bevorzugter mindestens 70 %, noch bevorzugter mindestens 90 %, am bevorzugtesten mindestens 95 % auf Aminosäureebene mit der Sequenz SEQ ID NO: 24, und die die enzymatische Eigenschaft einer Phytoen-Synthase aufweisen.

20

Weitere Beispiele für Phytoen-Synthasen und Phytoen-Synthase-Gene lassen sich beispielsweise aus verschiedenen Organismen, deren genomische Sequenz bekannt ist, wie vorstehend beschrieben; durch Homologievergleiche der Aminosäuresequenzen oder der entsprechenden rückübersetzten Nukleinsäuresequenzen aus Datenbanken mit der Seq ID NO: 24 leicht auffinden.

25

Weitere Beispiele für Phytoen-Synthasen und Phytoen-Synthase-Gene lassen sich weiterhin beispielsweise ausgehend von der Sequenz SEQ ID NO: 23 aus verschiedenen Organismen deren genomische Sequenz nicht bekannt ist, wie vorstehend beschrieben, durch Hybridisierungs- und PCR-Techniken in an sich bekannter Weise leicht auffinden.

30

35 In einer weiter besonders bevorzugten Ausführungsform werden zur Erhöhung der Phytoen-Synthase-Aktivität Nukleinsäuren in Organismen eingebracht, die Proteine kodieren, enthaltend die Aminosäuresequenz der Phytoen-Synthase der Sequenz SEQ ID NO: 24.

Geeignete Nukleinsäuresequenzen sind beispielsweise durch Rückübersetzung der Polypeptidsequenz gemäß dem genetischen Code erhältlich.

Bevorzugt werden dafür solche Codons verwendet, die entsprechend der Organismenspezifischen codon usage häufig verwendet werden. Die codon usage lässt sich anhand von Computerauswertungen anderer, bekannter Gene der betreffenden Organismen leicht ermitteln.

In einer besonders bevorzugten Ausführungsform bringt man eine Nukleinsäure, enthaltend die Sequenz SEQ ID NO: 23 in den Organismus ein.

Bevorzugt verwendet man in vorstehend beschriebener bevorzugter Ausführungsform als Phytoen-Desaturase-Gene Nukleinsäuren, die Proteine kodieren, enthaltend die Aminosäuresequenz SEQ ID NO: 26 oder eine von dieser Sequenz durch Substitution, Insertion oder Deletion von Aminosäuren abgeleitete Sequenz, die eine Identität von mindestens 30 %, vorzugsweise mindestens 50 %, bevorzugter mindestens 70 %, noch bevorzugter mindestens 90 %, am bevorzugtesten mindestens 95 % auf Aminosäureebene mit der Sequenz SEQ ID NO: 26, und die die enzymatische Eigenschaft einer Phytoen-Desaturase aufweisen.

Weitere Beispiele für Phytoen-Desaturasen und Phytoen-Desaturase-Gene lassen sich beispielsweise aus verschiedenen Organismen, deren genomische Sequenz bekannt ist, wie vorstehend beschrieben, durch Homologievergleiche der Aminosäuresequenzen oder der entsprechenden rückübersetzten Nukleinsäuresequenzen aus Datenbanken mit der Seq ID NO: 26 leicht auffinden.

Weitere Beispiele für Phytoen-Desaturasen und Phytoen-Desaturase-Gene lassen sich weiterhin beispielsweise ausgehend von der Sequenz SEQ ID NO: 25 aus verschiedenen Organismen deren genomische Sequenz nicht bekannt ist, wie vorstehend beschrieben, durch Hybridisierungs- und PCR-Techniken in an sich bekannter Weise leicht auffinden.

In einer weiter besonders bevorzugten Ausführungsform werden zur Erhöhung der Phytoen-Desaturase-Aktivität Nukleinsäuren in Organismen eingebracht, die Proteine kodieren, enthaltend die Aminosäuresequenz der Phytoen-Desaturase der Sequenz SEQ ID NO: 26.

Geeignete Nukleinsäuresequenzen sind beispielsweise durch Rückübersetzung der Polypeptidsequenz gemäß dem genetischen Code erhältlich.

Bevorzugt werden dafür solche Codons verwendet, die entsprechend der Organismenspezifischen codon usage häufig verwendet werden. Die codon usage lässt sich anhand von Computerauswertungen anderer, bekannter Gene der betreffenden Organismen leicht ermitteln.

5

In einer besonders bevorzugten Ausführungsform bringt man eine Nukleinsäure, enthaltend die Sequenz SEQ ID NO: 25 in den Organismus ein.

Bevorzugt verwendet man in vorstehend beschriebener bevorzugter Ausführungsform
10 als Zeta-Carotin-Desaturase-Gene Nukleinsäuren, die Proteine kodieren, enthaltend die Aminosäuresequenz SEQ ID NO: 28 oder eine von dieser Sequenz durch Substitution, Insertion oder Deletion von Aminosäuren abgeleitete Sequenz, die eine Identität von mindestens 30 %, vorzugsweise mindestens 50 %, bevorzugter mindestens 70 %, noch bevorzugter mindestens 90 %, am bevorzugtesten mindestens 95 % auf Amino-
15 säureebene mit der Sequenz SEQ ID NO: 28, und die die enzymatische Eigenschaft einer Zeta-Carotin-Desaturase aufweisen.

Weitere Beispiele für Zeta-Carotin-Desaturasen und Zeta-Carotin-Desaturase-Gene lassen sich beispielsweise aus verschiedenen Organismen, deren genomische Sequenz bekannt ist, wie vorstehend beschrieben, durch Homologievergleiche der Aminosäuresequenzen oder der entsprechenden rückübersetzten Nukleinsäuresequenzen aus Datenbanken mit der SEQ ID NO: 28 leicht auffinden.

Weitere Beispiele für Zeta-Carotin-Desaturasen und Zeta-Carotin-Desaturase-Gene lassen sich weiterhin beispielsweise ausgehend von der Sequenz SEQ ID NO: 119 aus verschiedenen Organismen deren genomische Sequenz nicht bekannt ist, wie vorstehend beschrieben, durch Hybridisierungs- und PCR-Techniken in an sich bekannter Weise leicht auffinden.

30 In einer weiter besonders bevorzugten Ausführungsform werden zur Erhöhung der Zeta-Carotin-Desaturase-Aktivität Nukleinsäuren in Organismen eingebracht, die Proteine kodieren, enthaltend die Aminosäuresequenz der Zeta-Carotin-Desaturase der Sequenz SEQ ID NO: 28.

35 Geeignete Nukleinsäuresequenzen sind beispielsweise durch Rückübersetzung der Polypeptidsequenz gemäß dem genetischen Code erhältlich.

Bevorzugt werden dafür solche Codons verwendet, die entsprechend der Organismenspezifischen codon usage häufig verwendet werden. Die codon usage lässt sich anhand von Computerauswertungen anderer, bekannter Gene der betreffenden Orga-

nismen leicht ermitteln.

In einer besonders bevorzugten Ausführungsform bringt man eine Nukleinsäure, enthaltend die Sequenz SEQ ID NO: 119 in den Organismus ein.

5

Bevorzugt verwendet man in vorstehend beschriebener bevorzugter Ausführungsform als CrtISO-Gene Nukleinsäuren, die Proteine kodieren, enthaltend die Aminosäuresequenz SEQ ID NO: 30 oder eine von dieser Sequenz durch Substitution, Insertion oder Deletion von Aminosäuren abgeleitete Sequenz, die eine Identität von mindestens 30 %, vorzugsweise mindestens 50 %, bevorzugter mindestens 70 %, noch bevorzugter mindestens 90 %, am bevorzugtesten mindestens 95 % auf Aminosäureebene mit der Sequenz SEQ ID NO: 30, und die die enzymatische Eigenschaft einer CrtIso aufweisen.

10

15

Weitere Beispiele für CrtISO und CrtISO–Gene lassen sich beispielsweise aus verschiedenen Organismen, deren genomische Sequenz bekannt ist, wie vorstehend beschrieben, durch Homologievergleiche der Aminosäuresequenzen oder der entsprechenden rückübersetzten Nukleinsäuresequenzen aus Datenbanken mit der Seq ID NO: 30 leicht auffinden.

20

Weitere Beispiele für CrtISO und CrtISO–Gene lassen sich weiterhin beispielsweise ausgehend von der Sequenz SEQ ID NO: 29 aus verschiedenen Organismen deren genomische Sequenz nicht bekannt ist, wie vorstehend beschrieben, durch Hybridisierungs– und PCR–Techniken in an sich bekannter Weise leicht auffinden.

25

In einer weiter besonders bevorzugten Ausführungsform werden zur Erhöhung der CrtISO-Aktivität Nukleinsäuren in Organismen eingebracht, die Proteine kodieren, enthaltend die Aminosäuresequenz der CrtISO der Sequenz SEQ ID NO: 30.

30

Geeignete Nukleinsäuresequenzen sind beispielsweise durch Rückübersetzung der Polypeptidsequenz gemäß dem genetischen Code erhältlich.

35

Bevorzugt werden dafür solche Codons verwendet, die entsprechend der Organismenspezifischen codon usage häufig verwendet werden. Die codon usage lässt sich anhand von Computerauswertungen anderer, bekannter Gene der betreffenden Organismen leicht ermitteln.

In einer besonders bevorzugten Ausführungsform bringt man eine Nukleinsäure, enthaltend die Sequenz SEQ ID NO: 29 in den Organismus ein.

40

- Bevorzugt verwendet man in vorstehend beschriebener bevorzugter Ausführungsform als FtsZ-Gene Nukleinsäuren, die Proteine kodieren, enthaltend die Aminosäuresequenz SEQ ID NO: 32 oder eine von dieser Sequenz durch Substitution, Insertion oder Deletion von Aminosäuren abgeleitete Sequenz, die eine Identität von mindestens 30 %, vorzugsweise mindestens 50 %, bevorzugter mindestens 70 %, noch bevorzugter mindestens 90 %, am bevorzugtesten mindestens 95 % auf Aminosäureebene mit der Sequenz SEQ ID NO: 32, und die die enzymatische Eigenschaft einer FtsZ aufweisen.
- 10 Weitere Beispiele für FtsZn und FtsZ-Gene lassen sich beispielsweise aus verschiedenen Organismen, deren genomische Sequenz bekannt ist, wie vorstehend beschrieben, durch Homologievergleiche der Aminosäuresequenzen oder der entsprechenden rückübersetzten Nukleinsäuresequenzen aus Datenbanken mit der Seq ID NO: 32 leicht auffinden.
- 15 Weitere Beispiele für FtsZn und FtsZ-Gene lassen sich weiterhin beispielsweise ausgehend von der Sequenz SEQ ID NO: 31 aus verschiedenen Organismen deren genomische Sequenz nicht bekannt ist, wie vorstehend beschrieben, durch Hybridisierungs- und PCR-Techniken in an sich bekannter Weise leicht auffinden.
- 20 In einer weiter besonders bevorzugten Ausführungsform werden zur Erhöhung der FtsZ-Aktivität Nukleinsäuren in Organismen eingebracht, die Proteine kodieren, enthaltend die Aminosäuresequenz der FtsZ der Sequenz SEQ ID NO: 32
Geeignete Nukleinsäuresequenzen sind beispielsweise durch Rückübersetzung der 25 Polypeptidsequenz gemäß dem genetischen Code erhältlich.
Bevorzugt werden dafür solche Codons verwendet, die entsprechend der Organismenspezifischen codon usage häufig verwendet werden. Die codon usage lässt sich anhand von Computerauswertungen anderer, bekannter Gene der betreffenden Organismen leicht ermitteln.
- 30 In einer besonders bevorzugten Ausführungsform bringt man eine Nukleinsäure, enthaltend die Sequenz SEQ ID NO: 31 in den Organismus ein.
- 35 Bevorzugt verwendet man in vorstehend beschriebener bevorzugter Ausführungsform als MinD-Gene Nukleinsäuren, die Proteine kodieren, enthaltend die Aminosäuresequenz SEQ ID NO: 34 oder eine von dieser Sequenz durch Substitution, Insertion oder Deletion von Aminosäuren abgeleitete Sequenz, die eine Identität von mindestens 30 %, vorzugsweise mindestens 50 %, bevorzugter mindestens 70 %, noch bevorzugter mindestens 90 %, am bevorzugtesten mindestens 95 % auf Aminosäureebene mit der 40

Sequenz SEQ ID NO: 34, und die die enzymatische Eigenschaft einer MinD aufweisen.

Weitere Beispiele für MinDn und MinD–Gene lassen sich beispielsweise aus verschiedenen Organismen, deren genomische Sequenz bekannt ist, wie vorstehend beschrieben,

- 5 durch Homologievergleiche der Aminosäuresequenzen oder der entsprechenden rückübersetzten Nukleinsäuresequenzen aus Datenbanken mit der Seq ID NO: 34 leicht auffinden.

Weitere Beispiele für MinDn und MinD–Gene lassen sich weiterhin beispielsweise aus-

- 10 gehend von der Sequenz SEQ ID NO: 33 aus verschiedenen Organismen deren ge-
nomische Sequenz nicht bekannt ist, wie vorstehend beschrieben, durch Hybridisie-
rungs– und PCR–Techniken in an sich bekannter Weise leicht auffinden.

In einer weiter besonders bevorzugten Ausführungsform werden zur Erhöhung der

- 15 MinD-Aktivität Nukleinsäuren in Organismen eingebracht, die Proteine kodieren, ent-
haltend die Aminosäuresequenz der MinD der Sequenz SEQ ID NO: 34.

Geeignete Nukleinsäuresequenzen sind beispielsweise durch Rückübersetzung der
Polypeptidsequenz gemäß dem genetischen Code erhältlich.

- 20 Bevorzugt werden dafür solche Codons verwendet, die entsprechend der Organis-
menspezifischen codon usage häufig verwendet werden. Die codon usage lässt sich
anhand von Computerauswertungen anderer, bekannter Gene der betreffenden Orga-
nismen leicht ermitteln.

- 25 In einer besonders bevorzugten Ausführungsform bringt man eine Nukleinsäure, ent-
haltend die Sequenz SEQ ID NO: 33 in den Organismus ein.

- Alle vorstehend erwähnten HMG-CoA-Reduktase-Gene, (E)-4-Hydroxy-
30 3-Methylbut-2-enyl-Diphosphat-Reduktase-Gene, 1-Deoxy-D-Xylose-
5-Phosphat-Synthase-Gene, 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Reduktoisomerase-Gene,
Isopentenyl-Diphosphat-Δ-Isomerase-Gene, Geranyl-Diphosphat-Synthase-Gene, Far-
nesyl-Diphosphat-Synthase-Gene, Geranyl-geranyl-Diphosphat-Synthase-Gene, Phy-
toen-Synthase-Gene, Phytoen-Desaturase-Gene, Zeta-Carotin-Desaturase-Gene, ctrl-
35 SO-Gene, FtsZ-Gene oder MinD-Gene sind weiterhin in an sich bekannter Weise
durch chemische Synthese aus den Nukleotidbausteinen wie beispielsweise durch
Fragmentkondensation einzelner überlappender, komplementärer Nukleinsäurebau-
steine der Doppelhelix herstellbar. Die chemische Synthese von Oligonukleotiden kann
beispielsweise, in bekannter Weise, nach der Phosphoamiditmethode (Voet, Voet, 2.
40 Auflage, Wiley Press New York, Seite 896-897) erfolgen. Die Anlagerung synthetischer

Oligonukleotide und Auffüllen von Lücken mithilfe des Klenow-Fragmentes der DNA-Polymerase und Ligationsreaktionen sowie allgemeine Klonierungsverfahren werden in Sambrook et al. (1989), Molecular cloning: A laboratory manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, beschrieben.

5

Die Nukleinsäuren, kodierend eine Ketolase, Nukleinsäuren kodierend eine β -Hydroxylase, Nukleinsäuren kodierend eine β -Cyclase, enthaltend die Aminosäuresequenz SEQ. ID. NO. 2 oder eine von dieser Sequenz durch Substitution, Insertion oder Deletion von Aminosäuren abgeleitete Sequenz, die eine Identität von mindestens 70

10 % auf Aminosäureebene mit der Sequenz SEQ. ID. NO. 2 aufweist, sowie die Nukleinsäuren kodierend eine HMG-CoA-Reduktase, Nukleinsäuren kodierend eine (E)-4-Hydroxy-3-Methylbut-2-enyl-Diphosphat-Reduktase, Nukleinsäuren kodierend eine 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Synthase, Nukleinsäuren kodierend eine 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Reduktoisomerase, Nukleinsäuren kodierend eine Isopentenyl-

15 Diphosphat- Δ -Isomerase, Nukleinsäuren kodierend eine Geranyl-Diphosphat-Synthase, Nukleinsäuren kodierend eine Farnesyl-Diphosphat-Synthase, Nukleinsäuren kodierend eine Geranyl-Geranyl-Diphosphat-Synthase, Nukleinsäuren kodierend eine Phytoen-Synthase, Nukleinsäuren kodierend eine Phytoen-Desaturase, Nukleinsäuren kodierend eine Zeta-Carotin-Desaturase, Nukleinsäuren kodierend ein
20 crtISO Protein, Nukleinsäuren kodierend ein FtsZ Protein und/oder Nukleinsäuren kodierend ein MinD Protein werden im folgenden auch "Effektgene" genannt.

Die Herstellung der genetisch veränderten, nicht-humanen Organismen kann, wie nachstehend beschrieben, beispielsweise durch Einbringen einzelner Nukleinsäure-

25 konstrukte (Expressionskassetten), enthaltend ein Effektgen oder durch Einbringen von Mehrfachkonstrukten erfolgen, die bis zu zwei oder drei der Effektgene enthalten oder mehr als drei Effektgene

Unter Organismen werden erfindungsgemäß vorzugsweise Organismen verstanden,

30 die als Wildtyp- oder Ausgangsorganismen natürlicherweise oder durch genetische Komplementierung und/oder Umregulierung der Stoffwechselwege in der Lage sind, Carotinoide, insbesondere β -Carotin und/oder Zeaxanthin und/oder Neoxanthin und/oder Violaxanthin und/oder Lutein herzustellen.

35 Weiter bevorzugte Organismen weisen als Wildtyp- oder Ausgangsorganismen bereits eine Hydroxylase-Aktivität auf und sind somit als Wildtyp- oder Ausgangsorganismen in der Lage, Zeaxanthin herzustellen.

Bevorzugte Organismen sind Pflanzen oder Mikroorganismen, wie beispielsweise Bakterien, Hefen, Algen oder Pilze.

Als Bakterien können sowohl Bakterien verwendet werden, die aufgrund des Einbrin-

- 5 gens von Genen der Carotinoidbiosynthese eines Carotinoid-produzierenden Organis-
mus in der Lage sind, Xanthophylle zu synthetisieren, wie beispielsweise Bakterien der
Gattung *Escherichia*, die beispielsweise crt-Gene aus *Erwinia* enthalten, als auch Bak-
terien, die von sich aus in der Lage sind, Xanthophylle zu synthetisieren wie beispiels-
weise Bakterien der Gattung *Erwinia*, *Agrobacterium*, *Flavobacterium*, *Alcaligenes*,
10 *Paracoccus*, *Nostoc* oder Cyanobakterien der Gattung *Synechocystis*.

Bevorzugte Bakterien sind *Escherichia coli*, *Erwinia herbicola*, *Erwinia uredovora*,
Agrobacterium aurantiacum, *Alcaligenes* sp. PC-1, *Flavobacterium* sp. strain R1534,
das Cyanobacterium *Synechocystis* sp. PCC6803, *Paracoccus marcusii* oder *Paracoc-*
15 *cus carotinifaciens*.

Bevorzugte Hefen sind *Candida*, *Saccharomyces*, *Hansenula*, *Pichia* oder *Phaffia*. Be-
sonders bevorzugte Hefen sind *Xanthophyllomyces dendrorhous* oder *Phaffia rhodo-*
zuma.

- 20 25 Bevorzugte Pilze sind *Aspergillus*, *Trichoderma*, *Ashbya*, *Neurospora*, *Blakeslea*, ins-
besondere *Blakeslea trispora*, *Phycomyces*, *Fusarium* oder weitere in Indian Chem.
Engr. Section B. Vol. 37, No. 1, 2 (1995) auf Seite 15, Tabelle 6 beschriebene Pilze.

- 25 Bevorzugte Algen sind Grünalgen, wie beispielsweise Algen der Gattung *Haematococ-*
cus, *Phaedactylum tricomatum*, *Volvox* oder *Dunaliella*. Besonders bevorzugte Algen
sind *Haematococcus puvialis* oder *Dunaliella bardawil*.

- 30 Weitere brauchbare Mikroorganismen und deren Herstellung zur Durchführung des
erfindungsgemäßen Verfahrens sind beispielsweise aus der DE-A-199 16 140 bekannt,
worauf hiermit Bezug genommen wird.

- 35 Besonders bevorzugte Pflanzen sind Pflanzen ausgewählt aus den Familien Ama-
ranthaceae, Amaryllidaceae, Apocynaceae, Asteraceae, Balsaminaceae, Begonia-
ceae, Berberidaceae, Brassicaceae, Cannabaceae, Caprifoliaceae, Caryophyllaceae,
Chenopodiaceae, Compositae, Cucurbitaceae, Cruciferae, Euphorbiaceae, Fabaceae,
Gentianaceae, Geraniaceae, Graminae, Illiaceae, Labiate, Lamiaceae, Leguminosae,
Liliaceae, Linaceae, Lobeliaceae, Malvaceae, Oleaceae, Orchidaceae, Papaveraceae,
Plumbaginaceae, Poaceae, Polemoniaceae, Primulaceae, Ranunculaceae, Rosaceae,
40 Rubiaceae, Scrophulariaceae, Solanaceae, Tropaeolaceae, Umbelliferae, Verbana-

ceae, Vitaceae und Violaceae.

- Ganz besonders bevorzugte Pflanzen sind ausgewählt aus der Gruppe der Pflanzen-
gattungen *Marigold*, *Tagetes erecta*, *Tagetes patula*, *Acacia*, *Aconitum*, *Adonis*, *Ami-
ca*, *Aquilegia*, *Aster*, *Astragalus*, *Bignonia*, *Calendula*, *Caltha*, *Campanula*, *Canna*,
5 *Centaurea*, *Cheiranthus*, *Chrysanthemum*, *Citrus*, *Crepis*, *Crocus*, *Curcurbita*, *Cytisus*,
Delonia, *Delphinium*, *Dianthus*, *Dimorphotheca*, *Doronicum*, *Eschscholtzia*, *Forsythia*,
10 *Fremontia*, *Gazania*, *Gelsemium*, *Genista*, *Gentiana*, *Geranium*, *Gerbera*, *Geum*, *Gre-
villea*, *Helenium*, *Helianthus*, *Hepatica*, *Heracleum*, *Hibiscus*, *Heliopsis*, *Hypericum*,
15 *Hypochoeris*, *Impatiens*, *Iris*, *Jacaranda*, *Kerria*, *Laburnum*, *Lathyrus*, *Leontodon*, *Lili-
um*, *Linum*, *Lotus*, *Lycopersicon*, *Lysimachia*, *Maratia*, *Medicago*, *Mimulus*, *Narcissus*,
Oenothera, *Osmanthus*, *Petunia*, *Photinia*, *Physalis*, *Phyteuma*, *Potentilla*, *Pyracantha*,
20 *Ranunculus*, *Rhododendron*, *Rosa*, *Rudbeckia*, *Senecio*, *Silene*, *Silphium*, *Sinapsis*,
Sorbus, *Spartium*, *Tecoma*, *Torenia*, *Tragopogon*, *Trollius*, *Tropaeolum*, *Tulipa*, *Tussi-
lago*, *Ulex*, *Viola* oder *Zinnia*, besonders bevorzugt ausgewählt aus der Gruppe der
Pflanzengattungen *Marigold*, *Tagetes erecta*, *Tagetes patula*, *Lycopersicon*, *Rosa*,
25 *Calendula*, *Physalis*, *Medicago*, *Helianthus*, *Chrysanthemum*, *Aster*, *Tulipa*, *Narcissus*,
Petunia, *Geranium*, *Tropaeolum* oder *Adonis*.
- Im erfindungsgemäßen Verfahren zur Herstellung von Ketocarotinoiden wird vorzugs-
weise dem Kultivierungsschritt der genetisch veränderten Organismen ein Ernten der
Organismen und weiter bevorzugt zusätzlich ein Isolieren von Ketocarotinoiden aus
den Organismen angeschlossen.
- Das Ernten der Organismen erfolgt in an sich bekannter Weise dem jeweiligen Orga-
nismus entsprechend. Mikroorganismen, wie Bakterien, Hefen, Algen oder Pilze oder
Pflanzenzellen, die durch Fermentation in flüssigen Nährmedien kultiviert werden, kön-
nen beispielsweise durch Zentrifugieren, Dekantieren oder Filtrieren abgetrennt wer-
den. Pflanzen werden in an sich bekannter Weise auf Nährböden gezogen und ent-
30 sprechend geerntet.

Die Kultivierung der genetisch veränderten Mikroorganismen erfolgt bevorzugt in Ge-
genwart von Sauerstoff bei einer Kultivierungstemperatur von mindestens etwa 20°C,
wie z.B. 20°C bis 40°C, und einem pH-Wert von etwa 6 bis 9. Bei genetisch veränder-
35 ten Mikroorganismen erfolgt vorzugsweise zunächst die Kultivierung der Mikroorga-
nismen in Gegenwart von Sauerstoff und in einem Komplexmedium, wie z.B. TB- oder
LB- Medium bei einer Kultivierungstemperatur von etwa 20 °C oder mehr, und einem
pH-Wert von etwa 6 bis 9, bis eine ausreichende Zelldichte erreicht ist. Um die Oxidati-
onsreaktion besser steuern zu können, bevorzugt man die Verwendung eines induzier-
40 baren Promoters. Die Kultivierung wird nach Induktion der Ketolaseexpression in Ge-

genwart von Sauerstoff, z.B. 12 Stunden bis 3 Tage, fortgesetzt.

- Die Isolierung der Ketocarotinoide aus der geernteten Biomasse erfolgt in an sich bekannter Weise, beispielsweise durch Extraktion und gegebenenfalls weiterer chemische oder physikalischer Reinigungsprozesse, wie beispielsweise Fällungsmethoden, Kristallographie, thermische Trennverfahren, wie Rektifizierverfahren oder physikalische Trennverfahren, wie beispielsweise Chromatographie.
- Wie nachstehend erwähnt, können die Ketocarotinoide in den erfindungsgemäßen, genetisch veränderten Pflanzen vorzugsweise in verschiedenen Pflanzengeweben, wie beispielsweise Samen, Blätter, Früchte, Blüten, insbesondere in Blütenblättern spezifisch hergestellt werden.
- Die Isolierung von Ketocarotinoiden aus den geernteten Blütenblättern erfolgt in an sich bekannter Weise, beispielsweise durch Trocknung und anschließender Extraktion und gegebenenfalls weiterer chemischer oder physikalischer Reinigungsprozesse, wie beispielsweise Fällungsmethoden, Kristallographie, thermische Trennverfahren, wie Rektifizierverfahren oder physikalische Trennverfahren, wie beispielsweise Chromatographie. Die Isolierung von Ketocarotinoiden aus den Blütenblättern erfolgt beispielsweise bevorzugt durch organische Lösungsmittel wie Aceton, Hexan, Ether oder tert.-Methylbutylether.
- Weitere Isolierverfahren von Ketocarotinoiden, insbesondere aus Blütenblättern, sind beispielsweise in Egger und Kleinig (*Phytochemistry* (1967) 6, 437-440) und Egger (*Phytochemistry* (1965) 4, 609-618) beschrieben.
- Vorzugsweise sind die Ketocarotinoide ausgewählt aus der Gruppe Astaxanthin, Canthaxanthin, Echinenon, 3-Hydroxyechinenon, 3'-Hydroxyechinenon, Adonirubin und Adonixanthin.
- Ein besonders bevorzugtes Ketocarotinoid ist Astaxanthin.
- Je nach verwendetem Organismus fallen die Ketocarotinoide in freier Form oder als Fettsäureester an oder als Diglucoside
- In Blütenblättern von Pflanzen fallen die Ketocarotinide im erfindungsgemäßen Verfahren in Form ihrer Mono- oder Diester mit Fettsäuren an. Einige nachgewiesene Fettsäuren sind z.B. Myristinsäure, Palmitinsäure, Stearinsäure, Ölsäure, Linolensäure, und Laurinsäure (Kamata und Simpson (1987) *Comp. Biochem. Physiol.* Vol. 86B(3),

587-591).

Die Herstellung der Ketocarotinoide kann in der ganzen Pflanze oder in einer bevorzugten Ausführungsform spezifisch in Pflanzengeweben, die Chromoplasten enthalten, 5 erfolgen. Bevorzugte Pflanzengewebe sind beispielsweise Wurzeln, Samen, Blätter, Früchte, Blüten und insbesondere Nektarien und Blütenblätter, die auch Petalen bezeichnet werden.

In einer besonderes bevorzugten Ausführungsform der erfindungsgemäßen Verfahrens 10 verwendet man genetisch veränderte Pflanzen, die in Blüten die höchste Expressionsrate einer Ketolase aufweisen..

Vorzugsweise wird dies dadurch erreicht, dass die Genexpression der Ketolase unter Kontrolle eines blütenspezifischen Promoters erfolgt. Beispielsweise werden dazu die 15 vorstehend beschriebenen Nukleinsäuren, wie nachstehend ausführlich beschrieben, in einem Nukleinsäurekonstrukt funktionell verknüpft mit einem blütenspezifischen Promotor in die Pflanze eingebracht.

In einer weiteren, besonderes bevorzugten Ausführungsform der erfindungsgemäßen 20 Verfahrens verwendet man genetisch veränderte Pflanzen, die in Früchten die höchste Expressionsrate einer Ketolase aufweisen.

Vorzugsweise wird dies dadurch erreicht, dass die Genexpression der Ketolase unter Kontrolle eines fruchtspezifischen Promoters erfolgt. Beispielsweise werden dazu die 25 vorstehend beschriebenen Nukleinsäuren, wie nachstehend ausführlich beschrieben, in einem Nukleinsäurekonstrukt funktionell verknüpft mit einem fruchtspezifischen Promotor in die Pflanze eingebracht.

In einer weiteren, besonderes bevorzugten, Ausführungsform der erfindungsgemäßen 30 Verfahrens verwendet man genetisch veränderte Pflanzen, die in Samen die höchste Expressionsrate einer Ketolase aufweisen.

Vorzugsweise wird dies dadurch erreicht, dass die Genexpression der Ketolase unter Kontrolle eines samenspezifischen Promoters erfolgt. Beispielsweise werden dazu die 35 vorstehend beschriebenen Nukleinsäuren, wie nachstehend ausführlich beschrieben, in einem Nukleinsäurekonstrukt funktionell verknüpft mit einem samenspezifischen Promotor in die Pflanze eingebracht.

Das Targeting in die Chromoplasten erfolgt durch ein funktionell verknüpftes plastidäres Transitpeptid.

Im folgenden wird exemplarisch die Herstellung genetisch veränderter Pflanzen mit erhöhter oder verursachter Ketolase-Aktivität und erhöhter oder verursachter β-Cyclase-Aktivität beschrieben, wobei die veränderte β-Cyclase-Aktivität durch eine β-Cyclase verursacht wird, enthaltend die Aminosäuresequenz SEQ. ID. NO. 2 oder eine von dieser Sequenz durch Substitution, Insertion oder Deletion von Aminosäuren abgeleitete Sequenz, die eine Identität von mindestens 70 % auf Aminosäureebene mit der Sequenz SEQ. ID. NO. 2 aufweist.

Die Erhöhung weiterer Aktivitäten, wie beispielsweise der Hydroxylase-Aktivität, HMG-CoA-Reduktase-Aktivität, (E)-4-Hydroxy-3-Methylbut-2-enyl-Diphosphat-Reduktase-Aktivität, 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Synthase-Aktivität, 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Reduktoisomerase-Aktivität, Isopentenyl-Diphosphat-Δ-Isomerase-Aktivität, Geranyl-Diphosphat-Synthase-Aktivität, Farnesyl-Diphosphat-Synthase-Aktivität, Geranyl-geranyl-Diphosphat-Synthase-Aktivität, Phytoen-Synthase-Aktivität, Phytoen-Desaturase-Aktivität, Zeta-Carotin-Desaturase-Aktivität, crtISO-Aktivität, FtsZ-Aktivität und/oder MinD-Aktivität kann analog unter Verwendung der entsprechenden Effektgene erfolgen.

Die Transformation kann bei den Kombinationen von genetischen Veränderungen einzeln oder durch Mehrfachkonstrukte erfolgen.

Die Herstellung der transgenen Pflanzen erfolgt vorzugsweise durch Transformation der Ausgangspflanzen, mit einem Nukleinsäurekonstrukt, das die vorstehend beschriebenen Nukleinsäuren, kodierend eine Ketolase und kodierend eine β-Cyclase enthält, die mit einem oder mehreren Regulationssignalen funktionell verknüpft sind, die die Transkription und Translation in Pflanzen gewährleisten, wobei die Nukleinsäure eine β-Cyclase kodiert, enthaltend die Aminosäuresequenz SEQ. ID. NO. 2 oder eine von dieser Sequenz durch Substitution, Insertion oder Deletion von Aminosäuren abgeleitete Sequenz, die eine Identität von mindestens 70 % auf Aminosäureebene mit der Sequenz SEQ. ID. NO. 2 aufweist.

Alternativ erfolgt die Herstellung der transgenen Pflanzen vorzugsweise durch Transformation der Ausgangspflanzen, mit zwei Nukleinsäurekonstrukten. Ein Nukleinsäurekonstrukt enthält mindestens eine vorstehend beschriebene Nukleinsäure, kodierend eine Ketolase, die mit einem oder mehreren Regulationssignalen funktionell verknüpft ist, die die Transkription und Translation in Pflanzen gewährleisten. Das zweite Nukleinsäurekonstrukt enthält mindestens eine vorstehend beschriebene Nukleinsäure,

kodierend eine β -Cyclase, die mit einem oder mehreren Regulationssignalen funktionell verknüpft sind, die die Transkription und Translation in Pflanzen gewährleisten, wobei die Nukleinsäure eine β -Cyclase kodiert, enthaltend die Aminosäuresequenz SEQ. ID. NO. 2 oder eine von dieser Sequenz durch Substitution, Insertion oder Deletion von Aminosäuren abgeleitete Sequenz, die eine Identität von mindestens 70 % auf Aminosäureebene mit der Sequenz SEQ. ID. NO. 2 aufweist..

5 Diese Nukleinsäurekonstrukte, in denen die Effektgene mit einem oder mehreren Regulationssignalen funktionell verknüpft sind, die die Transkription und Translation in Pflanzen gewährleisten, werden im folgenden auch Expressionskassetten genannt.

10 Vorzugsweise enthalten die Regulationssignale einen oder mehrere Promotoren, die die Transkription und Translation in Pflanzen gewährleisten.

15 Die Expressionskassetten beinhalten Regulationssignale, also regulative Nukleinsäuresequenzen, welche die Expression der Effektgene in der Wirtszelle steuern. Gemäß einer bevorzugten Ausführungsform umfasst eine Expressionskassette stromaufwärts, d.h. am 5'-Ende der kodierenden Sequenz, einen Promotor und stromabwärts, d.h. am 3'-Ende, ein Polyadenylierungssignal und gegebenenfalls weitere regulatorische Elemente, welche mit der dazwischenliegenden kodierenden Sequenz des Effektgens für mindestens eines der vorstehend beschriebenen Gene operativ verknüpft sind. Unter einer operativen Verknüpfung versteht man die sequenzielle Anordnung von Promotor, kodierender Sequenz, Terminator und ggf. weiterer regulatorischer Elementen derart, dass jedes der regulatorischen Elemente seine Funktion bei der Expression der kodierenden Sequenz bestimmungsgemäß erfüllen kann.

20 Im folgenden werden beispielhaft die bevorzugten Nukleinsäurekonstrukte, Expressionskassetten und Vektoren für Pflanzen und Verfahren zur Herstellung von transgenen Pflanzen, sowie die transgenen Pflanzen selbst beschrieben.

25 Die zur operativen Verknüpfung bevorzugten, aber nicht darauf beschränkten Sequenzen sind Targeting-Sequenzen zur Gewährleistung der subzellulären Lokalisation im Apoplasten, in der Vakuole, in Plastiden, im Mitochondrium, im Endoplasmatischen Retikulum (ER), im Zellkern, in Ölkörperchen oder anderen Kompartimenten und 30 Translationsverstärkern wie die 5'-Führungssequenz aus dem Tabak-Mosaik-Virus (Gallie et al., Nucl. Acids Res. 15 (1987), 8693 -8711).

Als Promotor der Expressionskassette ist grundsätzlich jeder Promotor geeignet, der die Expression von Fremdgenen in Pflanzen steuern kann.

"Konstitutiver" Promotor meint solche Promotoren, die eine Expression in zahlreichen, bevorzugt allen, Geweben über einen größeren Zeitraum der Pflanzenentwicklung, bevorzugt zu allen Zeitpunkten der Pflanzenentwicklung, gewährleisten.

- 5 Vorzugsweise verwendet man insbesondere einen pflanzlichen Promotor oder einen Promotor, der einem Pflanzenvirus entstammt. Insbesondere bevorzugt ist der Promotor des 35S-Transkriptes des CaMV Blumenkohlmosaikvirus (Franck et al. (1980) Cell 21:285-294; Odell et al. (1985) Nature 313:810-812; Shewmaker et al. (1985) Virology 140:281-288; Gardner et al. (1986) Plant Mol Biol 6:221-228), der 19S CaMV Promotor
10 (US 5,352,605; WO 84/02913; Benfey et al. (1989) EMBO J 8:2195-2202), den Triose-Phosphat Translokator (TPT) Promotor aus *Arabidopsis thaliana* Acc.-No. AB006698 , Basenpaar 53242 bis 55281; das Gen beginnend ab bp 55282 ist mit "phosphate/triose-phosphate translocator" annotiert, oder den 34S Promotor aus Figwort-mosaic virus Acc.-No. X16673, Basenpaar 1 bis 554.
15
Ein weiterer geeigneter konstitutiver Promotor ist der pds Promotor (Pecker et al. (1992) Proc. Natl. Acad. Sci USA 89: 4962-4966) oder der "Rubisco small subunit (SSU)"-Promotor (US 4,962,028), der LeguminB-Promotor (GenBank Acc.-Nr. X03677), der Promotor der Nopalinsynthase aus Agrobacterium, der TR-
20 Doppelpromotor, der OCS (Octopin Synthase) Promotor aus Agrobacterium, der Ubiquitin Promotor (Holtorf S et al. (1995) Plant Mol Biol 29:637-649), der Ubiquitin 1 Promotor (Christensen et al. (1992) Plant Mol Biol 18:675-689; Bruce et al. (1989) Proc Natl Acad Sci USA 86:9692-9696), der Smas Promotor, der Cinnamylalkoholdehydrogenase-Promotor (US 5,683,439), die Promotoren der vakuolärer ATPase Untereinheiten oder der Promotor eines prolinreichen Proteins aus Weizen (WO 91/13991), der Pnit-Promotor (Y07648.L, Hillebrand et al. (1998), Plant. Mol. Biol. 36, 89-99, Hillebrand et al. (1996), Gene, 170, 197-200) sowie weitere Promotoren von Genen, deren konstitutive Expression in Pflanzen dem Fachmann bekannt ist.
25
30 Die Expressionskassetten können auch einen chemisch induzierbaren Promotor enthalten (Übersichtsartikel: Gatz et al. (1997) Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol 48:89-108), durch den die Expression der Effektgene in der Pflanze zu einem bestimmten Zeitpunkt gesteuert werden kann. Derartige Promotoren, wie z.B. der PRP1 Promotor (Ward et al. (1993) Plant Mol Biol 22:361-366), ein durch Salicylsäure induzierbarer Promotor (WO 95/19443), ein durch Benzolsulfonamid-induzierbarer Promotor (EP 0 388 186), ein durch Tetrazyklin-induzierbarer Promotor (Gatz et al. (1992) Plant J 2:397-404), ein durch Abscisinsäure induzierbarer Promotor (EP 0 335 528) bzw. ein durch Ethanol- oder Cyclohexanon-induzierbarer Promotor (WO 93/21334) können ebenfalls verwendet werden.

- Ferner sind Promotoren bevorzugt, die durch biotischen oder abiotischen Stress induziert werden wie beispielsweise der pathogen-induzierbare Promotor des PRP1-Gens (Ward et al. (1993) Plant Mol Biol 22:361-366), der hitzeinduzierbare hsp70- oder hsp80-Promotor aus Tomate (US 5,187,267), der Kälteinduzierbare alpha-Amylase 5 Promotor aus der Kartoffel (WO 96/12814), der licht-induzierbare PPDK Promotor oder der verwundungsinduzierte pinII-Promotor (EP375091).

Pathogen-induzierbare Promotoren umfassen die von Genen, die infolge eines Pathogenbefalls induziert werden wie beispielsweise Gene von PR-Proteinen, SAR-Proteinen, b-1,3-Glucanase, Chitinase usw. (beispielsweise Redolfi et al. (1983) Neth J Plant Pathol 89:245-254; Uknas, et al. (1992) The Plant Cell 4:645-656; Van Loon 10 (1985) Plant Mol Viral 4:111-116; Marineau et al. (1987) Plant Mol Biol 9:335-342; Mattton et al. (1987) Molecular Plant-Microbe Interactions 2:325-342; Somssich et al. (1986) Proc Natl Acad Sci USA 83:2427-2430; Somssich et al. (1988) Mol Gen Genetics 15 2:93-98; Chen et al. (1996) Plant J 10:955-966; Zhang and Sing (1994) Proc Natl Acad Sci USA 91:2507-2511; Warner, et al. (1993) Plant J 3:191-201; Siebertz et al. (1989) Plant Cell 1:961-968(1989).

Umfasst sind auch verwundungsinduzierbare Promotoren wie der des pinII-Gens (Ryan 20 (1990) Ann Rev Phytopath 28:425-449; Duan et al. (1996) Nat Biotech 14:494-498), des wun1 und wun2-Gens (US 5,428,148), des win1- und win2-Gens (Stanford et al. (1989) Mol Gen Genet 215:200-208), des Systemin-Gens (McGurl et al. (1992) Science 225:1570-1573), des WIP1-Gens (Rohmeier et al. (1993) Plant Mol Biol 22:783-792; Ekelkamp et al. (1993) FEBS Letters 323:73-76), des MPI-Gens (Corderok 25 et al. (1994) The Plant J 6(2):141-150) und dergleichen.

Weitere geeignete Promotoren sind beispielsweise fruchtreifung-spezifische Promotoren, wie beispielsweise der fruchtreifung-spezifische Promotor aus Tomate (WO 30 94/21794, EP 409 625). Entwicklungsabhängige Promotoren schließt zum Teil die gewebespezifischen Promotoren ein, da die Ausbildung einzelner Gewebe naturgemäß entwicklungsabhängig erfolgt.

Weiterhin sind insbesondere solche Promotoren bevorzugt, die die Expression in Geweben oder Pflanzenteilen sicherstellen, in denen beispielsweise die Biosynthese von 35 Ketocarotinoiden bzw. dessen Vorstufen stattfindet. Bevorzugt sind beispielsweise Promotoren mit Spezifitäten für die Antheren, Ovarien, Petalen, Sepalen, Blüten, Blätter, Stengel, Samen und Wurzeln und Kombinationen hieraus.

Knollen-, Speicherwurzel- oder Wurzel-spezifische Promotoren sind beispielsweise der 40 Patatin-Promotor Klasse I (B33) oder der Promotor des Cathepsin D Inhibitors aus Kar-

toffel.

Blattspezifische Promotoren sind beispielsweise der Promotor der cytosolischen FBPase aus Kartoffel (WO 97/05900), der SSU Promotor (small subunit) der Rubisco

- 5 (Ribulose-1,5-bisphosphatcarboxylase) oder der ST-LSI Promotor aus Kartoffel (Stockhaus et al. (1989) EMBO J 8:2445-2451).

Blüten spezifische Promotoren sind beispielsweise der Phytoen-Synthase Promotor (WO 92/16635) oder der Promotor des P-rr Gens (WO 98/22593), der AP3 Promotor

- 10 aus *Arabidopsis thaliana*, der CHRC-Promotor (Chromoplast-specific carotenoid-associated protein (CHRC) gene promoter aus *Cucumis sativus* Acc.-No. AF099501, Basenpaar 1 bis 1532), der EPSP_Synthase Promotor (5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase gene promoter aus *Petunia hybrida*, Acc.-No. M37029, Basenpaar 1 bis 1788), der PDS Promotor (Phytoene desaturase gene promoter aus *Solanum lycopersicum*, Acc.-No. U46919, Basenpaar 1 bis 2078), der DFR-A Promotor (Di-hydroflavonol 4-reductase gene A promoter aus *Petunia hybrida*, Acc.-No. X79723, Basenpaar 32 bis 1902) oder der FBP1 Promotor (Floral Binding Protein 1 gene promoter aus *Petunia hybrida*, Acc.-No. L10115, Basenpaar 52 bis 1069).

- 20 Antheren-spezifische Promotoren sind beispielsweise der 5126-Promotor (US 5,689,049, US 5,689,051), der glob-I Promotor oder der g-Zein Promotor.

- Samen-spezifische Promotoren sind beispielsweise der ACP05-Promotor (Acyl-carrier-Protein Gen, WO9218634), die Promotoren AtS1 und AtS3 von *Arabidopsis* (WO 9920775), der LeB4-Promotor von *Vicia faba* (WO 9729200 und US 06403371), der Napin-Promotor von *Brassica napus* (US 5608152; EP 255378; US 5420034), der SBP-Promotor von *Vicia faba* (DE 9903432) oder die Maispromotoren End1 und End2 (WO 0011177).

- 30 Weitere zur Expression in Pflanzen geeignete Promotoren sind beschrieben in Rogers et al. (1987) Meth in Enzymol 153:253-277; Schardl et al. (1987) Gene 61:1-11 und Berger et al. (1989) Proc Natl Acad Sci USA 86:8402-8406).

- 35 Besonders bevorzugt im erfindungsgemäßen Verfahren sind konstitutive, samenspezifische, fruchtspezifische, blüten spezifische und insbesondere blütenblatt spezifische Promotoren.

- 40 Die Herstellung einer Expressionskassette erfolgt vorzugsweise durch Fusion eines geeigneten Promotors mit mindestens einem der vorstehend beschriebenen Effektge-

- ne, und vorzugsweise einer zwischen Promotor und Nukleinsäure-Sequenz inserierten Nukleinsäure, die für ein plastidenspezifisches Transitpeptid kodiert, sowie einem Polyadenylierungssignal nach gängigen Rekombinations- und Klonierungstechniken, wie sie beispielsweise in T. Maniatis, E.F. Fritsch und J. Sambrook, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY (1989) sowie in T.J. Silhavy, M.L. Berman und L.W. Enquist, Experiments with Gene Fusions, Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY (1984) und in Ausubel, F.M. et al., Current Protocols in Molecular Biology, Greene Publishing Assoc. and Wiley-Interscience (1987), beschrieben sind.
- Die vorzugsweise insertierte Nukleinsäuren, kodierend ein plastidäres Transitpeptid, gewährleisten die Lokalisation in Plastiden und insbesondere in Chromoplasten.
- Es können auch Expressionskassetten verwendet werden, deren Nukleinsäure-Sequenz für ein Effektgen-Produkt-Fusionsprotein kodiert, wobei ein Teil des Fusionsproteins ein Transitpeptid ist, das die Translokation des Polypeptides steuert. Bevorzugt sind für die Chromoplasten spezifische Transitpeptide, welche nach Translokation der Effektgene in die Chromoplasten vom Effektgenprodukt-Teil enzymatisch abgespalten werden.
- Insbesondere bevorzugt ist das Transitpeptid, das von der plastidären *Nicotiana tabacum* Transketolase oder einem anderen Transitpeptid (z.B. dem Transitpeptid der kleinen Untereinheit der Rubisco (*rbcS*) oder der Ferredoxin NADP Oxidoreduktase als auch der Isopentenylpyrophosphat Isomerase-2) oder dessen funktionellem Äquivalent abgeleitet ist.

Besonders bevorzugt sind Nukleinsäure-Sequenzen von drei Kassetten des Plastiden-Transitpeptids der plastidären Transketolase aus Tabak in drei Leserastern als KpnI/BamHI-Fragmente mit einem ATG-Codon in der NcoI Schnittstelle:

pTP09

KpnI_GGTACCATGGCGTCTTCTTCTCACTCTCTCAAGCTATCCTCTCT
GTTCTGTCCCTCGCCATGGCTCTGCCTCTTCTCAAACTTCCCCTTCTCT-
CACTTTTCCGGCTTAAATCCAATCCAATATCACCCACCTCCGCCGCCG-
TACTCCTTCCTCCGCCGCCGCCGCCGTAAGGTACCGGC-
GATTCTGTGCCTCAGCTGCAACCGAAACCATAGAGAAAATGAGACTGCGG-
GATCC_BamHI

pTP10

KpnI_GGTACCATGGCGTCTTCTTCTCACTCTCTCAAGCTATCCTCTCTC
GTTCTGTCCCTCGCCATGGCTCTGCCTCTTCTCAACTTCCCCTTCTCT-

- 5 CACTTTCCGGCCTAAATCCAATCCAATATCACCAACCTCCGCCGCCG-
TACTCCTTCCTCCGCCGCCGCCGCCGCGTAAGGTACCCGGC-
GATTCTGTGCCTCAGCTGCAACCATAAGAGAAAAGTGAAGACTGCGCTG-
GATCC_BamHI

10 pTP11

KpnI_GGTACCATGGCGTCTTCTTCTCACTCTCTCAAGCTATCCTCTCTC
GTTCTGTCCCTCGCCATGGCTCTGCCTCTTCTCAACTTCCCCTTCTCT-

- 15 CACTTTCCGGCCTAAATCCAATCCAATATCACCAACCTCCGCCGCCG-
TACTCCTTCCTCCGCCGCCGCCGCCGCGTAAGGTACCCGGC-
GATTCTGTGCCTCAGCTGCAACCATAAGAGAAAAGTGAAGACTGCGGG-
GATCC_BamHI

Weitere Beispiele für ein plastidäres Transitpeptid sind das Transitpeptid der plastidären Isopentenyl-pyrophosphat Isomerase-2 (IPP-2) aus *Arabisopsis thaliana* und das Transitpeptid der kleinen Untereinheit der Ribulosebisphosphat Carboxylase (rbcS) aus Erbse (Guerineau, F, Woolston, S, Brooks, L, Mullineaux, P (1988) An expression cassette for targeting foreign proteins into the chloroplasts. *Nucl. Acids Res.* 16: 11380).

- 20 25 Die erfindungsgemäßen Nukleinsäuren können synthetisch hergestellt oder natürlich gewonnen sein oder eine Mischung aus synthetischen und natürlichen Nukleinsäure-Bestandteilen enthalten, sowie aus verschiedenen heterologen Genabschnitten verschiedener Organismen bestehen.
- 30 35 Bevorzugt sind, wie vorstehend beschrieben, synthetische Nukleotid-Sequenzen mit Kodons, die von Pflanzen bevorzugt werden. Diese von Pflanzen bevorzugten Kodons können aus Kodons mit der höchsten Proteinhäufigkeit bestimmt werden, die in den meisten interessanten Pflanzenspezies exprimiert werden.
- Bei der Präparation einer Expressionskassette können verschiedene DNA-Fragmente manipuliert werden, um eine Nukleotid-Sequenz zu erhalten, die zweckmäßigerweise in der korrekten Richtung liest und die mit einem korrekten Leseraster ausgestattet ist. Für die Verbindung der DNA-Fragmente miteinander können an die Fragmente Adaptern oder Linker angesetzt werden.

Zweckmäßigerweise können die Promotor- und die Terminator-Regionen in Transkriptionsrichtung mit einem Linker oder Polylinker, der eine oder mehrere Restriktionsstellen für die Insertion dieser Sequenz enthält, versehen werden. In der Regel hat der Linker 1 bis 10, meistens 1 bis 8, vorzugsweise 2 bis 6 Restriktionsstellen. Im allgemeinen hat der Linker innerhalb der regulatorischen Bereiche eine Größe von weniger als 100 bp, häufig weniger als 60 bp, mindestens jedoch 5 bp. Der Promotor kann sowohl nativ bzw. homolog als auch fremdartig bzw. heterolog zur Wirtspflanze sein. Die Expressionskassette beinhaltet vorzugsweise in der 5'-3'-Transkriptionsrichtung den Promotor, eine kodierende Nukleinsäuresequenz oder ein Nukleinsäurekonstrukt und eine Region für die transkriptionale Termination. Verschiedene Terminationsbereiche sind gegeneinander beliebig austauschbar.

Beispiele für einen Terminator sind der 35S-Terminator (Guerineau et al. (1988) Nucl. Acids Res. 16: 11380), der nos Terminator (Depicker A, Stachel S, Dhaese P, Zambryski P, Goodman HM. Nopaline synthase: transcript mapping and DNA sequence. J Mol Appl Genet. 1982;1(6):561-73) oder der ocs Terminator (Gielen, J, de Beuckeleer, M, Seurinck, J, Debroek, H, de Greve, H, Lemmers, M, van Montagu, M, Schell, J (1984) The complete sequence of the TL-DNA of the Agrobacterium tumefaciens plasmid pTiAch5. EMBO J. 3: 835-846).
Ferner können Manipulationen, die passende Restriktionsschnittstellen bereitstellen oder die überflüssige DNA oder Restriktionsschnittstellen entfernen, eingesetzt werden. Wo Insertionen, Deletionen oder Substitutionen wie z.B. Transitionen und Transversionen in Frage kommen, können *in vitro*-Mutagenese, "primer-repair", Restriktion oder Ligation verwendet werden.

Bei geeigneten Manipulationen, wie z.B. Restriktion, "chewing-back" oder Auffüllen von Überhängen für "bluntends", können komplementäre Enden der Fragmente für die Ligation zur Verfügung gestellt werden.
Bevorzugte Polyadenylierungssignale sind pflanzliche Polyadenylierungssignale, vorzugsweise solche, die im wesentlichen T-DNA-Polyadenylierungssignale aus Agrobacterium tumefaciens, insbesondere des Gens 3 der T-DNA (Octopin Synthase) des Ti-Plasmids pTiACH5 entsprechen (Gielen et al., EMBO J. 3 (1984), 835 ff) oder funktionelle Äquivalente.

Die Übertragung von Fremdgenen in das Genom einer Pflanze wird als Transformation bezeichnet.

Dazu können an sich bekannte Methoden zur Transformation und Regeneration von Pflanzen aus Pflanzengeweben oder Pflanzenzellen zur transienten oder stabilen Transformation genutzt werden.

- 5 Geeignete Methoden zur Transformation von Pflanzen sind die Protoplastentransformation durch Polyethylenglykol-induzierte DNA-Aufnahme, das biolistische Verfahren mit der Genkanone – die sogenannte "particle bombardment" Methode, die Elektroporation, die Inkubation trockener Embryonen in DNA-haltiger Lösung, die Mikroinjektion und der, vorstehend beschriebene, durch *Agrobacterium* vermittelte Gentransfer. Die
10 genannten Verfahren sind beispielsweise in B. Jenes et al., Techniques for Gene Transfer, in: Transgenic Plants, Vol. 1, Engineering and Utilization, herausgegeben von S.D. Kung und R. Wu, Academic Press (1993), 128-143 sowie in Potrykus, Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Molec. Biol. 42 (1991), 205-225) beschrieben.
- 15 Vorzugsweise wird das zu exprimierende Konstrukt in einen Vektor kloniert, der geeignet ist, *Agrobacterium tumefaciens* zu transformieren, beispielsweise pBin19 (Bevan - et al., Nucl. Acids Res. 12 (1984), 8711) oder besonders bevorzugt pSUN2, pSUN3, pSUN4 oder pSUN5 (WO 02/00900).
- 20 Mit einem Expressionsplasmid transformierte Agrobakterien können in bekannter Weise zur Transformation von Pflanzen verwendet werden, z.B. indem verwundete Blätter oder Blattstücke in einer Agrobakterienlösung gebadet und anschließend in geeigneten Medien kultiviert werden.
- 25 Zur bevorzugten Herstellung von genetisch veränderten Pflanzen, im folgenden auch transgene Pflanzen bezeichnet, wird die fusionierte Expressionskassette in einen Vektor, beispielsweise pBin19 oder insbesondere pSUN5 und pSUN3 kloniert, der geeignet ist, in *Agrobacterium tumefaciens* transformiert zu werden. Mit einem solchen Vektor transformierte Agrobakterien können dann in bekannter Weise zur Transformation
30 von Pflanzen, insbesondere von Kulturpflanzen verwendet werden, indem beispielsweise verwundete Blätter oder Blattstücke in einer Agrobakterienlösung gebadet und anschließend in geeigneten Medien kultiviert werden.

Die Transformation von Pflanzen durch Agrobakterien ist unter anderem bekannt aus
35 F.F. White, Vectors for Gene Transfer in Higher Plants; in Transgenic Plants, Vol. 1, Engineering and Utilization, herausgegeben von S.D. Kung und R. Wu, Academic Press, 1993, S. 15-38. Aus den transformierten Zellen der verwundeten Blätter bzw. Blattstücke können in bekannter Weise transgene Pflanzen regeneriert werden, die ein oder mehrere in die Expressionskassette integrierte Gene enthalten.

- Zur Transformation einer Wirtspflanze mit einem oder mehreren erfindungsgemäßen Effektgenen wird eine Expressionskassette als Insertion in einen rekombinanten Vektor eingebaut, dessen Vektor-DNA zusätzliche funktionelle Regulationssignale, beispielsweise Sequenzen für Replikation oder Integration enthält. Geeignete Vektoren sind
- 5 unter anderem in "Methods in Plant Molecular Biology and Biotechnology" (CRC Press), Kap. 6/7, S. 71-119 (1993) beschrieben.

- Unter Verwendung der oben zitierten Rekombinations- und Klonierungstechniken können die Expressionskassetten in geeignete Vektoren kloniert werden, die ihre Vermehrung, beispielsweise in *E. coli*, ermöglichen. Geeignete Klonierungsvektoren sind u.a. pJIT117 (Guerineau et al. (1988) Nucl. Acids Res. 16 :11380), pBR332, pUC-Serien, M13mp-Serien und pACYC184. Besonders geeignet sind binäre Vektoren, die sowohl in *E. coli* als auch in Agrobakterien replizieren können.
- 10
- 15 Im folgenden wird exemplarisch die Herstellung erfindungsgemäßer, genetisch veränderter Mikroorganismen mit erhöhter oder verursachter Ketolase-Aktivität und erhöhter oder verursachter β-Cyclase-Aktivität näher beschrieben, wobei die veränderte β-Cyclase-Aktivität durch eine β-Cyclase verursacht wird, enthaltend die Aminosäuresequenz SEQ. ID. NO. 2 oder eine von dieser Sequenz durch Substitution, Insertion oder
- 20 Deletion von Aminosäuren abgeleitete Sequenz, die eine Identität von mindestens 70 % auf Aminosäureebene mit der Sequenz SEQ. ID. NO. 2 aufweist.

- Die Erhöhung weiterer Aktivitäten, wie beispielsweise der Hydroxylase-Aktivität, HMG-CoA-Reduktase-Aktivität, (E)-4-Hydroxy-3-Methylbut-2-enyl-Diphosphat-Reduktase-Aktivität, 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Synthase-Aktivität, 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Reduktoisomerase-Aktivität, Isopentenyl-Diphosphat-Δ-Isomerase-Aktivität, Geranyl-Diphosphat-Synthase-Aktivität, Farnesyl-Diphosphat-Synthase-Aktivität, Geranyl-geranyl-Diphosphat-Synthase-Aktivität, Phytoen-Synthase-Aktivität, Phytoen-Desaturase-Aktivität, Zeta-Carotin-Desaturase-Aktivität, crtISO-Aktivität, FtsZ-Aktivität
- 25
- 30 und/oder MinD-Aktivität kann analog unter Verwendung der entsprechenden Effektgene erfolgen.

- Die vorstehend beschriebenen Nukleinsäuren, kodierend eine Ketolase, β-Hydroxylase oder β-Cyclase, sowie die Nukleinsäuren kodierend eine HMG-CoA-Reduktase,
- 35 Nukleinsäuren kodierend eine (E)-4-Hydroxy-3-Methylbut-2-enyl-Diphosphat-Reduktase, Nukleinsäuren kodierend eine 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Synthase, Nukleinsäuren kodierend eine 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Reduktoisomerase, Nukleinsäuren kodierend eine Isopentenyl-Diphosphat-Δ-Isomerase, Nukleinsäuren kodierend eine Geranyl-Diphosphat-Synthase, Nukleinsäuren kodierend eine Farnesyl-Diphosphat-Synthase, Nukleinsäuren kodierend eine Geranyl-Geranyl-Diphosphat-Synthase, Nukleinsäuren kodierend eine Phytoen-Synthase, Nukleinsäuren kodierend
- 40

leinsäuren kodierend eine Phytoen-Synthase, Nukleinsäuren kodierend eine Phytoen-Desaturase, Nukleinsäuren kodierend eine Zeta-Carotin-Desaturase, Nukleinsäuren kodierend ein crtISO Protein, Nukleinsäuren kodierend ein FtsZ Protein und/oder Nukleinsäuren kodierend ein MinD Protein sind vorzugsweise in Expressionskonstrukte eingebaut, enthaltend unter der genetischen Kontrolle regulativer Nukleinsäuresequenzen eine für ein erfindungsgemäßes Enzym kodierende Nukleinsäuresequenz; sowie Vektoren, umfassend wenigstens eines dieser Expressionskonstrukte.

Vorzugsweise umfassen solche erfindungsgemäßigen Konstrukte 5'-stromaufwärts von der jeweiligen kodierenden Sequenz einen Promotor und 3'-stromabwärts eine Terminatorsequenz sowie gegebenenfalls weitere übliche regulative Elemente, und zwar jeweils operativ verknüpft mit dem Effektgen. Unter einer "operativen Verknüpfung" versteht man die sequentielle Anordnung von Promotor, kodierender Sequenz (Effektgen), Terminator und gegebenenfalls weiterer regulativer Elemente derart, dass jedes regulativen Element seine Funktion bei der Expression der kodierenden Sequenz bestimmungsgemäß erfüllen kann.

Beispiele für operativ verknüpfbare Sequenzen sind Targeting-Sequenzen sowie Translationsverstärker, Enhancer, Polyadenylierungssignale und dergleichen. Weitere regulative Elemente umfassen selektierbare Marker, Amplifikationssignale, Replikationsursprünge und dergleichen.

Zusätzlich zu den artifiziellen Regulationssequenzen kann die natürliche Regulationssequenz vor dem eigentlichen Effektgen noch vorhanden sein. Durch genetische Veränderung kann diese natürliche Regulation gegebenenfalls ausgeschaltet und die Expression der Gene erhöht oder erniedrigt werden. Das Genkonstrukt kann aber auch einfacher aufgebaut sein, das heißt es werden keine zusätzlichen Regulationssignale vor das Strukturgen insertiert und der natürliche Promotor mit seiner Regulation wird nicht entfernt. Statt dessen wird die natürliche Regulationssequenz so mutiert, dass keine Regulation mehr erfolgt und die Genexpression gesteigert oder verringert wird. Die Nukleinsäuresequenzen können in einer oder mehreren Kopien im Genkonstrukt enthalten sein.

Beispiele für brauchbare Promotoren in Mikroorganismen sind: cos-, tac-, trp-, tet-, trp-tet-, lpp-, lac-, lpp-lac-, lacIq-, T7-, T5-, T3-, gal-, trc-, ara-, SP6-, lambda-PR- oder im lambda-PL-Promotor, die vorteilhafterweise in gram-negativen Bakterien Anwendung finden; sowie die gram-positiven Promotoren amy und SPO2 oder die Hefepromotoren ADC1, MFa , AC, P-60, CYC1, GAPDH. Besonders bevorzugt ist die Verwendung induzierbarer Promotoren, wie z.B. licht- und insbesondere temperaturinduzierbarer

Promotoren, wie der P_rP_i-Promotor.

Prinzipiell können alle natürlichen Promotoren mit ihren Regulationssequenzen verwendet werden. Darüber hinaus können auch synthetische Promotoren vorteilhaft ver-

5 wendet werden.

Die genannten regulatorischen Sequenzen sollen die gezielte Expression der Nukleinsäuresequenzen und die Proteinexpression ermöglichen. Dies kann beispielsweise je nach Wirtsorganismus bedeuten, dass das Gen erst nach Induktion exprimiert oder

10 überexprimiert wird, oder dass es sofort exprimiert und/oder überexprimiert wird.

Die regulatorischen Sequenzen bzw. Faktoren können dabei vorzugsweise die Expression positiv beeinflussen und dadurch erhöhen oder erniedrigen. So kann eine Verstärkung der regulatorischen Elemente vorteilhafterweise auf der Transkriptionsebene erfolgen, indem starke Transkriptionssignale wie Promotoren und/oder "Enhancer" verwendet werden. Daneben ist aber auch eine Verstärkung der Translation möglich, indem beispielsweise die Stabilität der mRNA verbessert wird.

Die Herstellung einer Expressionskassette erfolgt durch Fusion eines geeigneten Promoters mit den vorstehend beschriebenen Nukleinsäuresequenzen, kodierend eine Ketolase, β-Hydroxylase, β-Cyclase, HMG-CoA-Reduktase, (E)-4-Hydroxy-3-Methylbut-2-enyl-Diphosphat-Reduktase, 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Synthase, 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Reduktoisomerase, Isopentenyl-Diphosphat-Δ-Isomerase, Geranyl-Diphosphat-Synthase, Farnesyl-Diphosphat-Synthase, Geranyl-Geranyl-Diphosphat-Synthase, Phytoen-Synthase, Phytoen-Desaturase, Zeta-Carotin-Desaturase, crtISO Protein, FtsZ Protein und/oder ein MinD Protein sowie einem Terminator- oder Polyadenylierungssignal. Dazu verwendet man gängige Rekombinations- und Klonierungstechniken, wie sie beispielsweise in T. Maniatis, E.F. Fritsch und J. Sambrook, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY (1989) sowie in T.J. Silhavy, M.L. Berman und L.W. Enquist, Experiments with Gene Fusions, Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY (1984) und in Ausubel, F.M. et al., Current Protocols in Molecular Biology, Greene Publishing Assoc. and Wiley Interscience (1987) beschrieben sind.

35 Das rekombinante Nukleinsäurekonstrukt bzw. Genkonstrukt wird zur Expression in einem geeigneten Wirtsorganismus vorteilhafterweise in einen wirtsspezifischen Vektor insertiert, der eine optimale Expression der Gene im Wirt ermöglicht. Vektoren sind dem Fachmann wohl bekannt und können beispielsweise aus "Cloning Vectors" (Pouwels P. H. et al., Hrsg, Elsevier, Amsterdam-New York-Oxford, 1985) entnommen werden. Unter Vektoren sind außer Plasmiden auch alle anderen dem Fachmann bekann-

te Vektoren, wie beispielsweise Phagen, Viren, wie SV40, CMV, Baculovirus und Adenovirus, Transposons, IS-Elemente, Phasmide, Cosmide, und lineare oder zirkuläre DNA zu verstehen. Diese Vektoren können autonom im Wirtsorganismus repliziert oder chromosomal repliziert werden.

5

Als Beispiele für geeignete Expressionsvektoren können genannt werden:

- Übliche Fusionsexpressionsvektoren, wie pGEX (Pharmacia Biotech Inc; Smith, D.B. und Johnson, K.S. (1988) Gene 67:31-40), pMAL (New England Biolabs, Beverly, MA) 10 und pRIT 5 (Pharmacia, Piscataway, NJ), bei denen Glutathion-S-Transferase (GST), Maltose E-bindendes Protein bzw. Protein A an das rekombinante Zielprotein fusioniert wird.
- Nicht-Fusionsprotein-Expressionsvektoren wie pTrc (Armann et al., (1988) Gene 15 69:301-315) und pET 11d (Studier et al. Gene Expression Technology: Methods in Enzymology 185, Academic Press, San Diego, Kalifornien (1990) 60-89) oder pBluescript und pUC-Vektoren.
- Hefe-Expressionsvektor zur Expression in der Hefe *S. cerevisiae*, wie pYEpSec1 (Baldari et al., (1987) Embo J. 6:229-234), pMFA (Kurjan und Herskowitz (1982) Cell 20 30:933-943), pJRY88 (Schultz et al. (1987) Gene 54:113-123) sowie pYES2 (Invitrogen Corporation, San Diego, CA).
- Vektoren und Verfahren zur Konstruktion von Vektoren, die sich zur Verwendung in anderen Pilzen, wie filamentösen Pilzen, eignen, umfassen diejenigen, die eingehend beschrieben sind in: van den Hondel, C.A.M.J.J. & Punt, P.J. (1991) "Gene transfer systems and vector development for filamentous fungi, in: Applied Molecular Genetics of Fungi, J.F. Peberdy et al., Hrsg., S. 1-28, Cambridge University Press: Cambridge.
- Baculovirus-Vektoren, die zur Expression von Proteinen in gezüchteten Insektenzellen (bspw. Sf9-Zellen) verfügbar sind, umfassen die pAc-Reihe (Smith et al., (1983) Mol. Cell Biol.. 3:2156-2165) und die pVL-Reihe (Lucklow und Summers (1989) Virology 30 170:31-39).
- Weitere geeignete Expressionssysteme für prokaryotische und eukaryotische Zellen sind in Kapitel 16 und 17 von Sambrook, J., Fritsch, E.F. und Maniatis, T., Molecular cloning: A Laboratory Manual, 2. Auflage, Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, 1989 beschrieben.

Mit Hilfe der erfindungsgemäßen Expressionskonstrukte bzw. Vektoren sind genetisch veränderte Mikroorganismen herstellbar, welche beispielsweise mit wenigstens einem erfindungsgemäßen Vektor transformiert sind.

- 5 Vorteilhaftweise werden die oben beschriebenen erfindungsgemäßen rekombinanten Konstrukte in ein geeignetes Wirtssystem eingebracht und exprimiert. Dabei werden vorzugsweise dem Fachmann bekannte geläufige Klonierungs- und Transfektionsmethoden, wie beispielsweise Co-Präzipitation, Protoplastenfusion, Elektroporation, retrovirale Transfektion und dergleichen, verwendet, um die genannten Nukleinsäuren 10 im jeweiligen Expressionssystem zur Expression zu bringen. Geeignete Systeme werden beispielsweise in Current Protocols in Molecular Biology, F. Ausubel et al., Hrsg., Wiley Interscience, New York 1997, beschrieben.
- 15 Die Selektion erfolgreich transformierter Organismen kann durch Markergene erfolgen, die ebenfalls im Vektor oder in der Expressionskassette enthalten sind. Beispiele für solche Markergene sind Gene für Antibiotikaresistenz und für Enzyme, die eine farbgebende Reaktion katalysieren, die ein Anfärben der transformierten Zelle bewirkt. Diese können dann mittels automatischer Zellsortierung selektiert werden.
- 20 Erfolgreich mit einem Vektor transformierte Mikroorganismen, die ein entsprechendes Antibiotikaresistenzgen (z.B. G418 oder Hygromycin) tragen, lassen sich durch entsprechende Antibiotika-enthaltende Medien oder Nährböden selektieren. Markerproteine, die an der Zelloberfläche präsentiert werden, können zur Selektion mittels Affinitätschromatographie genutzt werden.
- 25 Die Kombination aus den Wirtsorganismen und den zu den Organismen passenden Vektoren, wie Plasmide, Viren oder Phagen, wie beispielsweise Plasmide mit dem RNA-Polymerase/Promotor-System, die Phagen λ oder andere temperante Phagen oder Transposons und/oder weiteren vorteilhaften regulatorischen Sequenzen bildet 30 ein Expressionssystem.
- Die Erfindung betrifft ferner die genetisch veränderten, nicht-humanen Organismen, wobei die genetische Veränderung die Aktivität einer Ketolase
- 35 A für den Fall, dass der Wildtyporganismus bereits eine Ketolase-Aktivität aufweist, gegenüber dem Wildtyp erhöht und
- B für den Fall, dass der Wildtyporganismus keine Ketolase-Aktivität aufweist, gegenüber dem Wildtyp verursacht,

und wobei die genetische Veränderung die Aktivität einer β -Cyclase

C für den Fall, dass der Wildtyporganismus bereits eine β -Cyclase -Aktivität aufweist, gegenüber dem Wildtyp erhöht und

5

D für den Fall, dass der Wildtyporganismus keine β -Cyclase -Aktivität aufweist, gegenüber dem Wildtyp verursacht

und die nach C erhöhte oder nach D verursachte β -Cyclase-Aktivität durch eine β -

10 Cyclase verursacht wird, enthaltend die Aminosäuresequenz SEQ. ID. NO. 2 oder eine von dieser Sequenz durch Substitution, Insertion oder Deletion von Aminosäuren abgeleitete Sequenz, die eine Identität von mindestens 70 % auf Aminosäureebene mit der Sequenz SEQ. ID. NO. 2 aufweist.

15 Wie vorstehend ausgeführt erfolgt die Erhöhung (gemäß A) oder Verursachung (gemäß B) der Ketolase-Aktivität gegenüber dem Wildtyp vorzugsweise durch die Erhöhung der Genexpression einer Nukleinsäure, kodierend eine Ketolase.

20 In einer weiter bevorzugten Ausführungsform erfolgt die Erhöhung der Genexpression einer Nukleinsäure kodierend eine Ketolase durch Einbringen von Nukleinsäuren, die Ketolasen kodieren, in den Organismus.

In den erfindungsgemäßen transgenen Organismen liegt also in dieser Ausführungsform gegenüber dem Wildtyp mindestens ein weiteres Ketolase-Gen vor. In dieser

25 Ausführungsform weist der erfindungsgemäße genetisch veränderte Organismus vorzugsweise mindestens eine exogene (=heterologe) Nukleinsäure, kodierend eine Ketolase, auf oder mindestens zwei endogene Nukleinsäuren, kodierend eine Ketolase, auf:

30 Dazu kann prinzipiell jedes Ketolase-Gen, also jede Nukleinsäuren die eine Ketolase kodiert verwendet werden.

Bevorzugte Nukleinsäuren, kodierend eine Ketolase sind vorstehend bei den erfindungsgemäßen Verfahren beschrieben.

35 Vorzugsweise erfolgt die Erhöhung oder Verursachung der β -Cyclase-Aktivität, wie vorstehend beschrieben, durch Erhöhung der Genexpression gegenüber dem Wildtyp von Nukleinsäuren, kodierend eine β -Cyclase, enthaltend die Aminosäuresequenz SEQ. ID. NO. 2 oder eine von dieser Sequenz durch Substitution, Insertion oder Deletion von Aminosäuren abgeleitete Sequenz, die eine Identität von mindestens 70 % auf

Aminosäureebene mit der Sequenz SEQ. ID. NO. 2 aufweist.

- In einer bevorzugten Ausführungsform erfolgt die Erhöhung der Genexpression einer Nukleinsäure, kodierend eine β -Cyclase, durch Einbringen in den Organismus von
- 5 mindestens einer Nukleinsäure, kodierend eine β -Cyclase, enthaltend die Aminosäuresequenz SEQ. ID. NO. 2 oder eine von dieser Sequenz durch Substitution, Insertion oder Deletion von Aminosäuren abgeleitete Sequenz, die eine Identität von mindestens 70 % auf Aminosäureebene mit der Sequenz SEQ. ID. NO. 2 aufweist.
- 10 In den erfindungsgemäßen transgenen Organismen liegt also in dieser Ausführungsform gegenüber dem Wildtyp mindestens ein weiteres β -Cyclase-Gen vor. In dieser Ausführungsform weist der erfindungsgemäße genetisch veränderte Organismus vorzugsweise mindestens eine exogene (=heterologe) Nukleinsäure, kodierend eine β -Cyclase, auf oder mindestens zwei endogene Nukleinsäuren, kodierend eine β -Cyclase, auf.
- 15

Dazu kann prinzipiell jedes β -Cyclase-Gen, also jede Nukleinsäure, die eine β -Cyclase kodiert, enthaltend die Aminosäuresequenz SEQ. ID. NO. 2 oder eine von dieser Sequenz durch Substitution, Insertion oder Deletion von Aminosäuren abgeleitete Sequenz, die eine Identität von mindestens 70 % auf Aminosäureebene mit der Sequenz SEQ. ID. NO. 2 aufweist, verwendet werden.

Bevorzugte β -Cyclase-Gene sind vorstehend beschrieben.

- 25 Besonders bevorzugte, genetisch veränderte Organismen weisen, wie vorstehend erwähnt, zusätzlich eine erhöhte oder verursachte Hydroxylase-Aktivität gegenüber dem Wildtyporganismus auf. Weiter bevorzugte Ausführungsformen sind vorstehend im erfindungsgemäßen Verfahren beschrieben.
- 30 Weitere, besonders bevorzugte, genetisch veränderte nicht-humane Organismen weisen, wie vorstehend erwähnt, zusätzlich gegenüber dem Wildtyp mindestens eine weitere erhöhte Aktivität, ausgewählt aus der Gruppe HMG-CoA-Reduktase-Aktivität, (E)-4-Hydroxy-3-Methylbut-2-enyl-Diphosphat-Reduktase-Aktivität, 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Synthase-Aktivität, 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Reduktoisomerase-Aktivität, Isopentenyl-Diphosphat- Δ -Isomerase-Aktivität, Geranyl-Diphosphat-Synthase-Aktivität, Farnesyl-Diphosphat-Synthase-Aktivität, Geranyl-geranyl-Diphosphat-Synthase-Aktivität, Phytoen-Synthase-Aktivität, Phytoen-Desaturase-Aktivität, Zeta-Carotin-Desaturase-Aktivität, crtISO-Aktivität, FtsZ-Aktivität und MinD-Aktivität auf. Weiter bevorzugte Ausführungsformen sind vorstehend im erfindungsgemäßen Verfahren beschrieben.
- 35
- 40

Unter Organismen werden erfindungsgemäß vorzugsweise Organismen verstanden, die als Wildtyp- oder Ausgangsorganismen natürlicherweise oder durch genetische Komplementierung und/oder Umregulierung der Stoffwechselwege in der Lage sind,

- 5 Carotinoide, insbesondere β -Carotin und/oder Zeaxanthin und/oder Neoxanthin und/oder Violaxanthin und/oder Lutein herzustellen.

Weiter bevorzugte Organismen weisen als Wildtyp- oder Ausgangsorganismen bereits eine Hydroxylase-Aktivität auf und sind somit als Wildtyp- oder Ausgangsorganismen in

- 10 der Lage, Zeaxanthin herzustellen.

Bevorzugte Organismen sind Pflanzen oder Mikroorganismen, wie beispielsweise Bakterien, Hefen, Algen oder Pilze.

- 15 Als Bakterien können sowohl Bakterien verwendet werden, die aufgrund des Einbringens von Genen der Carotinoidbiosynthese eines Carotinoid-produzierenden Organismus in der Lage sind, Xanthophylle zu synthetisieren, wie beispielsweise Bakterien der Gattung *Escherichia*, die beispielsweise crt-Gene aus *Erwinia* enthalten, als auch Bakterien, die von sich aus in der Lage sind, Xanthophylle zu synthetisieren wie beispielsweise Bakterien der Gattung *Erwinia*, *Agrobacterium*, *Flavobacterium*, *Alcaligenes*, *Paracoccus*, *Nostoc* oder Cyanobakterien der Gattung *Synechocystis*.
- 20

- Bevorzugte Bakterien sind *Escherichia coli*, *Erwinia herbicola*, *Erwinia uredovora*, *Agrobacterium aurantiacum*, *Alcaligenes* sp. PC-1, *Flavobacterium* sp. strain R1534, das Cyanobakterium *Synechocystis* sp. PCC6803, *Paracoccus marcusii* oder *Paracoccus carotinifaciens*.
- 25

- Bevorzugte Hefen sind *Candida*, *Saccharomyces*, *Hansenula*, *Pichia* oder *Phaffia*. Besonders bevorzugte Hefen sind *Xanthophyllomyces dendrorhous* oder *Phaffia rhodozyma*.
- 30

- Bevorzugte Pilze sind *Aspergillus*, *Trichoderma*, *Ashbya*, *Neurospora*, *Blakeslea*, insbesondere *Blakeslea trispora*, *Phycomyces*, *Fusarium* oder weitere in Indian Chem. Engr. Section B. Vol. 37, No. 1, 2 (1995) auf Seite 15, Tabelle 6 beschriebene Pilze.
- 35

- Bevorzugte Algen sind Grünalgen, wie beispielsweise Algen der Gattung *Haematococcus*, *Phaeodactylum tricornutum*, *Volvox* oder *Dunaliella*. Besonders bevorzugte Algen sind *Haematococcus pluvialis* oder *Dunaliella bardawil*.

Weitere brauchbare Mikroorganismen und deren Herstellung zur Durchführung des erfundungsgemäßen Verfahrens sind beispielsweise aus der DE-A-199 16 140 bekannt, worauf hiermit Bezug genommen wird.

- 5 Besonders bevorzugte Pflanzen sind Pflanzen ausgewählt aus den Familien Amaryllidaceae, Amaryllidaceae, Apocynaceae, Asteraceae, Balsaminaceae, Begoniaceae, Berberidaceae, Brassicaceae, Cannabaceae, Caprifoliaceae, Caryophyllaceae, Chenopodiaceae, Compositae, Cucurbitaceae, Cruciferae, Euphorbiaceae, Fabaceae, Gentianaceae, Geraniaceae, Graminae, Iiliaceae, Labiate, Lamiaceae, Leguminosae, 10 Liliaceae, Linaceae, Lobeliaceae, Malvaceae, Oleaceae, Orchidaceae, Papaveraceae, Plumbaginaceae, Poaceae, Polemoniaceae, Primulaceae, Ranunculaceae, Rosaceae, Rubiaceae, Scrophulariaceae, Solanaceae, Tropaeolaceae, Umbelliferae, Verbana- ceae, Vitaceae und Violaceae.
- 15 Ganz besonders bevorzugte Pflanzen sind ausgewählt aus der Gruppe der Pflanzengattungen *Marigold*, *Tagetes erecta*, *Tagetes patula*, *Acacia*, *Aconitum*, *Adonis*, *Amica*, *Aquilegia*, *Aster*, *Astragalus*, *Bignonia*, *Calendula*, *Caltha*, *Campanula*, *Canna*, *Centaurea*, *Cheiranthus*, *Chrysanthemum*, *Citrus*, *Crepis*, *Crocus*, *Curcurbita*, *Cytisus*, *Delonia*, *Delphinium*, *Dianthus*, *Dimorphotheca*, *Doronicum*, *Eschscholtzia*, *Forsythia*, 20 *Fremontia*, *Gazania*, *Gelsemium*, *Genista*, *Gentiana*, *Geranium*, *Gerbera*, *Geum*, *Grevillea*, *Helenium*, *Helianthus*, *Hepatica*, *Heracleum*, *Hisbiscus*, *Heliopsis*, *Hypericum*, *Hypochoeris*, *Impatiens*, *Iris*, *Jacaranda*, *Keria*, *Laburnum*, *Lathyrus*, *Leontodon*, *Lili- um*, *Linum*, *Lotus*, *Lycopersicon*, *Lysimachia*, *Maratia*, *Medicago*, *Mimulus*, *Narcissus*, *Oenothera*, *Osmanthus*, *Petunia*, *Photinia*, *Physalis*, *Phyteuma*, *Potentilla*, *Pyracantha*, 25 *Ranunculus*, *Rhododendron*, *Rosa*, *Rudbeckia*, *Senecio*, *Silene*, *Silphium*, *Sinapsis*, *Sorbus*, *Spartium*, *Tecoma*, *Torenia*, *Tragopogon*, *Trollius*, *Tropaeolum*, *Tulipa*, *Tussi- lago*, *Ulex*, *Viola* oder *Zinnia*, besonders bevorzugt ausgewählt aus der Gruppe der Pflanzengattungen *Marigold*, *Tagetes erecta*, *Tagetes patula*, *Lycopersicon*, *Rosa*, *Calendula*, *Physalis*, *Medicago*, *Helianthus*, *Chrysanthemum*, *Aster*, *Tulipa*, *Narcissus*, 30 *Petunia*, *Geranium*, *Tropaeolum* oder *Adonis*.

Ganz besonders bevorzugte genetisch veränderte Pflanzen sind ausgewählt aus den Pflanzengattungen *Marigold*, *Tagetes erecta*, *Tagetes patula*, *Adonis*, *Lycopersicon*, *Rosa*, *Calendula*, *Physalis*, *Medicago*, *Helianthus*, *Chrysanthemum*, *Aster*, *Tulipa*, *Nar- cissus*, *Petunia*, *Geranium* oder *Tropaeolum*, wobei die genetisch veränderte Pflanze mindestens eine transgene Nukleinsäure, kodierend eine Ketolase, enthält.

Die transgenen Pflanzen, deren Vermehrungsgut, sowie deren Pflanzenzellen, -gewebe oder -teile, insbesondere deren Früchte, Samen, Blüten und Blütenblätter

sind ein weiterer Gegenstand der vorliegenden Erfindung.

Die genetisch veränderten Pflanzen können, wie vorstehend beschrieben, zur Herstellung von Ketocarotinoiden, insbesondere Astaxanthin verwendet werden.

5

Von Menschen und Tieren verzehrbar erfindungsgemäße, genetisch veränderte Organismen, insbesondere Pflanzen oder Pflanzenteile, wie insbesondere Blütenblätter mit erhöhtem Gehalt an Ketocarotinoiden, insbesondere Astaxanthin können auch beispielsweise direkt oder nach an sich bekannter Prozessierung als Nahrungsmittel oder

10 Futtermittel oder als Futter- und Nahrungsergänzungsmittel verwendet werden.

Ferner können die genetisch veränderten Organismen zur Herstellung von Ketocarotinoid-haltigen Extrakten der Organismen und/oder zur Herstellung von Futter- und Nahrungsergänzungsmitteln verwendet werden.

15

Die genetisch veränderten Organismen weisen im Vergleich zum Wildtyp einen erhöhten Gehalt an Ketocarotinoiden auf.

Unter einem erhöhten Gehalt an Ketocarotinoiden wird in der Regel ein erhöhter Gehalt an Gesamt-Ketocarotinoid verstanden.

Unter einem erhöhten Gehalt an Ketocarotinoiden wird aber auch insbesondere ein veränderter Gehalt der bevorzugten Ketocarotinoide verstanden, ohne dass zwangsläufig der Gesamt-Carotinidgehalt erhöht sein muss.

20

In einer besonders bevorzugten Ausführungsform weisen die erfindungsgemäßen, genetisch veränderten Pflanzen im Vergleich zum Wildtyp einen erhöhten Gehalt an Astaxanthin auf.

Unter einem erhöhten Gehalt wird in diesem Fall auch ein verursachter Gehalt an Ketocarotinoiden, bzw. Astaxanthin verstanden.

Die Erfindung wird durch die nun folgenden Beispiele erläutert, ist aber nicht auf diese beschränkt:

25

Allgemeine Experimentelle Bedingungen:
Sequenzanalyse rekombinanter DNA

Die Sequenzierung rekombinanter DNA-Moleküle erfolgte mit einem Laserfluoreszenz-
40 DNA-Sequenzierer der Firma Licor (Vertrieb durch MWG Biotech, Ebersbach) nach der

Methode von Sanger (Sanger et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 74 (1977), 5463-5467).

Beispiel 1:

Amplifikation einer DNA, die die gesamte Primärsequenz der NOST-Ketolase aus

5 *Nostoc sp. PCC 7120* codiert

Die DNA, die für die NOST-Ketolase aus *Nostoc sp. PCC 7120* kodiert, wurde mittels PCR aus *Nostoc sp. PCC 7120* (Stamm der "Pasteur Culture Collection of Cyanobacterium") amplifiziert.

10

Für die Präparation von genomischer DNA aus einer Suspensionskultur von *Nostoc sp. PCC 7120*, die 1 Woche mit Dauerlicht und konstantem Schütteln (150 rpm) at 25°C in BG 11-Medium (1.5 g/l NaNO₃, 0.04 g/l K₂PO₄·3H₂O, 0.075 g/l MgSO₄·H₂O, 0.036 g/l CaCl₂·2H₂O, 0.006 g/l citric acid, 0.006 g/l Ferric ammonium citrate, 0.001 g/l ED-

15

TA disodium magnesium, 0.04 g/l Na₂CO₃, 1ml trace metal mix "A5+Co" (2.86 g/l H₃BO₃, 1.81 g/l MnCl₂·4H₂O, 0.222 g/l ZnSO₄·7H₂O, 0.39 g/l NaMoO₄·2H₂O, 0.079 g/l CuSO₄·5H₂O, 0.0494 g/l Co(NO₃)₂·6H₂O)) gewachsen war, wurden die Zellen durch Zentrifugation geerntet, in flüssigem Stickstoff eingefroren und im Mörser pulverisiert.

20

Protokoll für DNA Isolation aus *Nostoc PCC7120*:

Aus einer 10 ml Flüssigkultur wurden die Bakterienzellen durch 10minütige Zentrifugation bei 8 000 rpm pelletiert. Anschließend wurden die Bakterienzellen in flüssigem

25 Stickstoff mit einem Mörser zerstoßen und gemahlen. Das Zellmaterial wurde in 1 ml 10mM Tris HCl (pH 7.5) resuspendiert und in ein Eppendorf Reaktionsgefäß (2ml Volumen) überführt. Nach Zugabe von 100 µl Proteinase K (Konzentration: 20 mg/ml) wurde die Zellsuspension für 3 Stunden bei 37°C inkubiert. Anschließend wurde die Suspension mit 500 µl Phenol extrahiert. Nach 5minütiger Zentrifugation bei 13 000

30 upm wurde die obere, wässrige Phase in ein neues 2 ml-Eppendorf Reaktionsgefäß überführt. Die Extraktion mit Phenol wurde 3mal wiederholt. Die DNA wurde durch Zugabe von 1/10 Volumen 3 M Natriumacetat (pH 5.2) und 0.6 Volumen Isopropanol gefällt und anschließend mit 70% Ethanol gewaschen. Das DNA-Pellet wurde bei Raumtemperatur getrocknet, in 25 µl Wasser aufgenommen und unter Erhitzung auf 65°C

35 gelöst.

Die Nukleinsäure, kodierend eine Ketolase aus *Nostoc PCC 7120*, wurde mittels "polymerase chain reaction" (PCR) aus *Nostoc sp. PCC 7120* unter Verwendung eines sense-spezifischen Primers (NOSTF, SEQ ID No. 79) und eines antisense-

spezifischen Primers (NOSTG SEQ ID No. 80) amplifiziert.

Die PCR-Bedingungen waren die folgenden:

- 5 Die PCR zur Amplifikation der DNA, die für ein Ketolase Protein bestehend aus der gesamten Primärsequenz kodiert, erfolgte in einem 50 ul Reaktionsansatz, in dem enthalten war:
- 1 ul einer *Nostoc sp. PCC 7120* DNA (hergestellt wie oben beschrieben)
 - 10 - 0.25 mM dNTPs
 - 0.2 mM NOSTF (SEQ ID No. 79)
 - 0.2 mM NOSTG (SEQ ID No. 80)
 - 5 ul 10X PCR-Puffer (TAKARA)
 - 0.25 ul.R Taq Polymerase (TAKARA)
 - 15 - 25.8 ul Aq. Dest.

Die PCR wurde unter folgenden Zyklusbedingungen durchgeführt:

- 1X 94°C 2 Minuten
- 20 35X 94°C 1 Minute
- 55°C 1 Minuten
- 72°C 3 Minuten
- 1X 72°C 10 Minuten

- 25 Die PCR-Amplifikation mit SEQ ID No. 79 und SEQ ID No. 80 resultierte in einem 805 Bp-Fragment, das für ein Protein bestehend aus der gesamten Primärsequenz kodiert (SEQ ID No. 81). Unter Verwendung von Standardmethoden wurde das Amplifikat in den PCR-Klonierungsvektor pGEM-T (Promega) kloniert und der Klon pNOSTF-G erhalten.
- 30 Sequenzierung des Klons pNOSTF-G mit dem M13F- und dem M13R-Primer bestätigte eine Sequenz, welche mit der DNA-Sequenz von 88,886-89,662 des Datenbankeintrages AP003592 identisch ist. Diese Nukleotidsequenz wurde in einem unabhängigem Amplifikationsexperiment reproduziert und repräsentiert somit die Nukleotidsequenz im verwendeten *Nostoc sp. PCC 7120*.
- 35

- 40 Dieser Klon pNOSTF-G wurde daher für die Klonierung in den Expressionsvektor pJIT117 (Guerineau et al. 1988, Nucl. Acids Res. 16: 11380) verwendet. Die Klonierung erfolgte durch Isolierung des 799 Bp SphI-Fragments aus pNOSTF-G und Ligierung in den SphI geschnittenen Vektor pJIT117. Der Klon, der die Ketolase von *Nostoc*

sp. PCC 7120 in der korrekten Orientierung als N-terminale translationale Fusion mit dem rbcS Transitpeptid enthält, heisst pJNOST.

Beispiel 2:

- 5 Konstruktion des Plasmides pMCL-CrtYIBZ/idi/gps für die Synthese von Zeaxanthin in *E. coli*

Die Konstruktion von pMCL-CrtYIBZ/idi/gps erfolgte in drei Schritten über die Zwischenstufen pMCL-CrtYIBZ und pMCL-CrtYIBZ/idi. Als Vektor wurde das mit high-copy-number Vektoren kompatible Plasmid pMCL200 verwendet (Nakano, Y., Yoshida, Y., Yamashita, Y. und Koga, T.; Construction of a series of pACYC-derived plasmid vectors; Gene 162 (1995), 157-158).

Beispiel 2.1.: Konstruktion von pMCL-CrtYIBZ

- 15 Die Biosynthesegene *crtY*, *crtB*, *crtI* und *crtZ* entstammen dem Bakterium *Erwinia uredovora* und wurden mittels PCR amplifiziert. Genomische DNA von *Erwinia uredovora* (DSM 30080) wurde von der Deutschen Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen (DSMZ, Braunschweig) innerhalb eines Service-Dienstes präpariert. Die PCR-Reaktion wurde entsprechend den Angaben des Herstellers durchgeführt (Roche, Long
20 Template PCR: Procedure for amplification of 5-20 kb targets with the expand long template PCR system). Die PCR-Bedingungen für die Amplifikation des Biosynthesecusters von *Erwinia uredovora* waren die folgenden:

Master Mix 1:

- 25 - 1.75 µl dNTPs (Endkonzentration 350 µM)
- 0.3 µM Primer Crt1 (SEQ ID No. 82)
- 0.3 µM Primer Crt2 (SEQ ID No. 83)
- 250 – 500 ng genomische DNA von DSM 30080
30 Aq. Dest. bis zu einem Gesamtvolumen von 50 µl

Master Mix 2:

- 5 µl 10x PCR Puffer 1 (Endkonzentration 1x, mit 1.75 mM Mg²⁺)
35 - 10x PCR Puffer 2 (Endkonzentration 1x, mit 2.25 mM Mg²⁺)
- 10x PCR Puffer 3 (Endkonzentration 1x, mit 2.25 mM Mg²⁺)
- 0.75 µl Expand Long Template Enzyme Mix (Endkonzentration 2.6 Units)
Aq. Dest. bis zu einem Gesamtvolumen von 50 µl

Die beiden Ansätze "Master Mix 1" und "Master Mix 2" wurden zusammenpipetiert. Die PCR wurde in einem Gesamtvolumen von 50 μ l unter folgenden Zyklusbedingungen durchgeführt:

5 1X94°C 2 Minuten
30X 94°C 30 Sekunden
 58°C 1 Minute
 68°C 4 Minuten
1X72°C 10 Minuten

10 Die PCR-Amplifikation mit SEQ ID No. 82 und SEQ ID No. 83 resultierte in einem Fragment (SEQ ID NO: 84), das für die Gene *CrtY* (Protein: SEQ ID NO: 85), *CrtI* (Protein: SEQ ID NO: 86), *crtB* (Protein: SEQ ID NO: 87) und *CrtZ* (*iDNA*) kodiert. Unter Verwendung von Standardmethoden wurde das Amplifikat in den PCR-
15 Klonierungsvektor pCR2.1 (Invitrogen) kloniert und der Klon pCR2.1-CrtYIBZ erhalten.

Das Plasmid pCR2.1-CrtYIBZ wurde Sall und HindIII geschnitten, das resultierende Sall/HindIII-Fragment isoliert und durch Ligierung in den Sall/HindIII geschnittenen Vektor pMCL200 transferiert. Das in pMCL 200 klonierte Sall/HindIII Fragment aus
20 pCR2.1-CrtYIBZ ist 4624 Bp lang, kodiert für die Gene *CrtY*, *CrtI*, *crtB* und *CrtZ* und entspricht der Sequenz von Position 2295 bis 6918 in D90087 (SEQ ID No. 84). Das Gen *CrtZ* wird entgegen der Leserichtung der Gene *CrtY*, *CrtI* und *CrtB* mittels seines endogenen Promotors transkribiert. Der resultierende Klon heisst pMCL-CrtYIBZ.

25 Beispiel 2.2.: Konstruktion von pMCL-CrtYIBZ/idi
Das Gen *idi* (Isopentenyldiphosphat-Isomerase; IPP-Isomerase) wurde aus *E. coli* mittels PCR amplifiziert. Die Nukleinsäure, kodierend das gesamte *idi* Gen mit *idi*-Promotor und Ribosomenbindestelle, wurde aus *E. coli* mittels "polymerase chain reaction" (PCR) unter Verwendung eines sense-spezifischen Primers (5'-*idi* SEQ ID No. 88)
30 und eines antisense-spezifischen Primers (3'-*idi* SEQ ID No. 89) amplifiziert.

Die PCR-Bedingungen waren die folgenden:

35 Die PCR zur Amplifikation der DNA erfolgte in einem 50 μ l Reaktionsansatz, in dem enthalten war:

- 1 μ l einer *E. coli* TOP10- Suspension
- 0.25 mM dNTPs
- 0.2 mM 5'-*idi* (SEQ ID No. 88)
40 - 0.2 mM 3'-*idi* (SEQ ID No. 89)

- 5 ul 10X PCR-Puffer (TAKARA)
- 0.25 ul R Taq Polymerase (TAKARA)
- 28.8 ul Aq. Dest.

5 Die PCR wurde unter folgenden Zyklusbedingungen durchgeführt:

1X94°C 2 Minuten
20X 94°C 1 Minute
62 °C 1 Minute
10 72°C 1 Minute
1X72°C 10 Minuten

Die PCR-Amplifikation mit SEQ ID No. 88 und SEQ ID No. 89 resultierte in einem 679 Bp-Fragment, das für ein Protein bestehend aus der gesamten Primärsequenz kodiert 15 (SEQ ID No. 90). Unter Verwendung von Standardmethoden wurde das Amplifikat in den PCR-Klonierungsvektor pCR2.1 (Invitrogen) kloniert und der Klon pCR2.1-idi erhalten.

Sequenzierung des Klons pCR2.1-idi bestätigte eine Sequenz, die sich nicht von der 20 publizierten Sequenz AE000372 in Position 8774 bis Position 9440 unterscheidet. Diese Region umfaßt die Promotor-Region, die potentielle Ribosomenbindestelle und den gesamten "open reading frame" für die IPP-Isomerase. Das in pCR2.1-idi klonierte Fragment hat durch das Einfügen einer Xhol-Schnittstelle am 5'-Ende und einer Sall-Schnittstelle am 3'-Ende des *idi*-Gens eine Gesamtlänge von 679 Bp.

25 Dieser Klon wurde daher für die Klonierung des *idi*-Gens in den Vektor pMCL-CrtYIBZ verwendet. Die Klonierung erfolgte durch Isolierung des Xhol/Sall-Fragments aus pCR2.1-idi und Ligierung in den Xhol/Sall geschnittenen Vektor pMCL-CrtYIBZ. Der resultierende Klon heisst pMCL-CrtYIBZ/*idi*.

30 Beispiel 2.3.: Konstruktion von pMCL-CrtYIBZ/*idi/gps*
Das Gen *gps* (Geranylgeranylpyrophosphat-Synthase; ; GGPP-Synthase) wurde aus *Archaeoglobus fulgidus* mittels PCR amplifiziert. Die Nukleinsäure, kodierend *gps* aus *Archaeoglobus fulgidus*, wurde mittels "polymerase chain reaction" (PCR) unter Verwendung eines sense-spezifischen Primers (5'-*gps* SEQ ID No. 92) und eines anti-sense-spezifischen Primers (3'-*gps* SEQ ID No. 93) amplifiziert.

35 Die DNA von *Archaeoglobus fulgidus* wurde von der Deutschen Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturën (DSMZ, Braunschweig) innerhalb eines Service-Dienstes 40 präpariert. Die PCR-Bedingungen waren die folgenden:

Die PCR zur Amplifikation der DNA, die für ein GGPP-Synthase Protein bestehend aus der gesamten Primärsequenz kodiert, erfolgte in einem 50 µl Reaktionsansatz, in dem enthalten war:

5

- 1 µl einer *Archaeoglobus fulgidus*-DNA
 - 0.25 mM dNTPs
 - 0.2 mM 5'-gps (SEQ ID No. 92)
 - 0.2 mM 3'-gps (SEQ ID No. 93)
- 10 - 5 µl 10X PCR-Puffer (TAKARA)
- 0.25 µl R Taq Polymerase (TAKARA)
 - 28.8 µl Aq. Dest.

Die PCR wurde unter folgenden Zyklusbedingungen durchgeführt:

15

1X94°C 2 Minuten

20X 94°C 1 Minute

56°C 1 Minute

72°C 1 Minute

20 1X72°C 10 Minuten

- Das mittels PCR und den Primern SEQ ID No. 92 und SEQ ID No. 93 amplifizierte DNA-Fragment wurde mit an sich bekannten Methoden aus dem Agarosegel eluiert und mit den Restriktionsenzymen Ncol und HindIII geschnitten. Daraus resultiert ein 25 962 Bp-Fragment, das für ein Protein bestehend aus der gesamten Primärsequenz kodiert (SEQ ID No. 94). Unter Verwendung von Standardmethoden wurde das Ncol/HindIII geschnittene Amplifikat in den Vektor pCB97-30 kloniert und der Klon pCB-gps erhalten.
- 30 Sequenzierung des Klons pCB-gps bestätigte eine Sequenz für die GGPP-Synthase aus *A. fulgidus*, die sich von der publizierten Sequenz AF120272 in einem Nukleotid unterscheidet. Durch das Einfügen einer Ncol-Schnittstelle im gps-Gen wurde das zweite Kodon der GGPP-Synthase verändert. In der publizierten Sequenz AF120272 kodiert CTG (Position 4-6) für Leucin. Durch die Amplifikation mit den beiden Primern 35 SEQ ID No. 92 und SEQ ID No. 93 wurde dieses zweite Kodon in GTG verändert, welches für Valin kodiert.
- Der Klon pCB-gps wurde daher für die Klonierung des gps-Gens in den Vektor pMCL-CrtYIBZ/idi verwendet. Die Klonierung erfolgte durch Isolierung des KpnI/Xhol-Fragments aus pCB-gps und Ligierung in den KpnI und Xhol geschnittenen Vektor

100

pMCL-CrtYIBZ/idi. Das klonierte KpnI/Xhol-Fragment (SEQ ID No. 94) trägt den Prrn16-Promotor zusammen mit einer minimalen 5'-UTR-Sequenz von rbcL, den ersten 6 Kodons von rbcL, die die GGPP-Synthase N-terminal verlängern, und 3' vom gps-Gen die psbA-Sequenz. Der N-Terminus der GGPP-Synthase hat somit anstelle der natürlichen Aminosäure-Abfolge mit Met-Leu-Lys-Glu (Aminosäure 1 bis 4 aus AF120272) die veränderte Aminosäure-Abfolge Met-Thr-Pro-Gln-Thr-Ala-Met-Val-Lys-Glu. Daraus resultiert, dass die rekombinante GGPP-Synthase, beginnend mit Lys in Position 3 (in AF120272) identisch ist und keine weiteren Änderungen in der Aminosäuresequenz aufweist. Die rbcL- und psbA-Sequenzen wurden gemäß einer Referenz nach Eibl et al. (Plant J. 19. (1999), 1-13) verwendet. Der resultierende Klon heisst pMCL-CrtYIBZ/idi/gps.

Beispiel 3:

Biotransformation von Zeaxanthin in rekombinanten *E. coli*-Stämmen

Zur Zeaxanthin-Biotransformation wurden rekombinante *E. coli*-Stämme hergestellt, welche durch heterologe Komplementation zur Zeaxanthin-Produktion befähigt sind. Stämme von *E. coli* TOP10 wurden als Wirtszellen für die Komplementationsexperimente mit den Plasmiden pNOSTF-G und pMCL-CrtYIBZ/idi/gps verwendet.

Um *E. coli*-Stämme herzustellen, die die Synthese von Zeaxanthin in hoher Konzentration ermöglichen, wurde das Plasmid pMCL-CrtYIBZ/idi/gps konstruiert. Das Plasmid trägt die Biosynthesegene crtY, crtB, crtI und crtY von *Erwinia uredovora*, das Gen gps (für Geranylgeranylpyrophosphat-Synthetase) aus *Archaeoglobus fulgidus* und das Gen idi (Isopentenyldiphosphat-Isomerase) aus *E. coli*. Mit diesem Konstrukt wurden limitierende Schritte für eine hohe Akkumulation von Carotinoiden und deren biosynthetischen Vorstufen beseitigt. Dies wurde zuvor von Wang et al. in ähnlicher Weise mit mehreren Plasmiden beschrieben (Wang, C.-W., Oh, M.-K. und Liao, J.C.; Engineered isoprenoid pathway enhances astaxanthin production in *Escherichia coli*, Biotechnology and Bioengineering 62 (1999), 235-241).

Kulturen von *E. coli* TOP10 wurden in an sich bekannter Weise mit den beiden Plasmiden pNOSTF-G und pMCL-CrtYIBZ/idi/gps transformiert und in LB-Medium bei 30°C bzw. 37°C über Nacht kultiviert. Ampicillin (50 µg/ml), Chloramphenicol (50 µg/ml) und Isopropyl-β-thiogalactosid (1 mmol) wurden in an sich üblicher Weise ebenfalls über Nacht zugegeben.

Zur Isolierung der Carotinoide aus den rekombinanten Stämmen wurden die Zellen mit Aceton extrahiert, das organische Lösungsmittel zur Trockne eingedampft und die Ca-

rotinoide mittels HPLC über eine C30-Säule aufgetrennt. Folgende Verfahrensbedingungen wurden eingestellt.

Trennsäule: Prontosil C30-Säule, 250 x 4,6 mm, (Bischoff, Leonberg)

5 Flussrate: 1.0 ml/min

Eluenten: Laufmittel A - 100% Methanol

Laufmittel B - 80% Methanol, 0.2% Ammoniumacetat

Laufmittel C - 100% t-Butyl-methylether

10 Gradientprofil:

Zeit	Flussrate	% Laufmittel A	% Laufmittel B	% Laufmittel C
1.00	1.0	95.0	5.0	0
1.05	1.0	80.0	5.0	15.0
14.00	1.0	42.0	5.0	53.0
14.05	1.0	95.0	5.0	0
17.00	1.0	95.0	5.0	0
18.00	1.0	95.0	5.0	0

Detektion: 300 - 500 nm

15 Die Spektren wurden direkt aus den Elutionspeaks unter Verwendung eines Photodiodearraydetektors bestimmt. Die isolierten Substanzen wurden über ihre Absorptionspektren und ihre Retentionszeiten im Vergleich zu Standardproben identifiziert.

20

Beispiel 4

Analog zu den vorhergehenden Beispielen wurde ein *E.coli*-Stamm hergestellt, der eine Ketolase aus *Haematococcus pluvialis* Flotow em. Wille exprimiert. Dazu wurde 25 die cDNA, die für die gesamte Primärsequenz der Ketolase aus *Haematococcus pluvialis* Flotow em. Wille kodiert amplifiziert und gemäß Beispiel 1 in den gleichen Expressionsvektor kloniert.

Die cDNA, die für die Ketolase aus *Haematococcus pluvialis* kodiert, wurde mittels 30 PCR aus einer *Haematococcus pluvialis* (Stamm 192.80 der "Sammlung von Algenkulturen der Universität Göttingen") Suspensionskultur amplifiziert. Für die Präparation von Total-RNA aus einer Suspensionskultur von *Haematococcus pluvialis* (Stamm 192.80), die 2 Wochen mit indirektem Tageslicht bei Raumtemperatur in *Haematococ-*

102

cus- Medium (1.2 g/l Natriumacetat, 2 g/l Hefeextrakt, 0.2 g/l MgCl₂·6H₂O, 0.02 CaCl₂·2H₂O; pH 6.8; nach Autoklavieren Zugabe von 400 mg/l L-Asparagin, 10 mg/l FeSO₄·H₂O) gewachsen war, wurden die Zellen geerntet, in flüssigem Stickstoff eingefroren und im Mörser pulverisiert. Anschließend wurden 100 mg der gefrorenen, pulverisierten Algenzellen in ein Reaktionsgefäß überführt und in 0.8 ml Trizol-Puffer (LifeTechnologies) aufgenommen. Die Suspension wurde mit 0.2 ml Chloroform extrahiert. Nach 15 minütiger Zentrifugation bei 12 000 g wurde der wässrige Überstand abgenommen und in ein neues Reaktionsgefäß überführt und mit einem Volumen Ethanol extrahiert. Die RNA wurde mit einem Volumen Isopropanol gefällt, mit 75% Ethanol gewaschen und das Pellet in DEPC Wasser (über Nacht Inkubation von Wasser mit 1/1000 Volumen Diethylpyrocarbonat bei Raumtemperatur, anschließend autoklaviert) gelöst. Die RNA-Konzentration wurde photometrisch bestimmt.

Für die cDNA-Synthese wurden 2.5 µg Gesamt-RNA für 10 min bei 60°C denaturiert, 15 für 2 min auf Eis abgekühlt und mittels eines cDNA-Kits (Ready-to-go-you-prime-beads, Pharmacia Biotech) nach Herstellerangaben unter Verwendung eines antisense spezifischen Primers PR1 (gcaaggctcga cagctacaaa cc) in cDNA umgeschrieben.

Die Nukleinsäure codierend eine Ketolase aus Haematococcus pluvialis (Stamm 20 192.80) wurde mittels polymerase chain reaction (PCR) aus Haematococcus pluvialis unter Verwendung eines sense spezifischen Primers PR2 (gaagcatgca gcttagcagcg acag) und eines antisense spezifischen Primers PR1 amplifiziert.

Die PCR-Bedingungen waren die folgenden:
25 Die PCR zur Amplifikation der cDNA, die für ein Ketolase Protein bestehend aus der gesamten Primärsequenz codiert, erfolgte in einem 50 µl Reaktionsansatz, in dem enthalten war:

- 30 - 4 µl einer Haematococcus pluvialis cDNA (hergestellt wie oben beschrieben)
- 0.25 mM dNTPs
- 0.2 mM PR1
- 0.2 mM PR2
- 5 µl 10X PCR-Puffer (TAKARA)
- 35 - 0.25 µl R Taq Polymerase (TAKARA)
- 25.8 µl Aq. Dest.

Die PCR wurde unter folgenden Zyklusbedingungen durchgeführt:
40 1X94°C 2 Minuten

35X 94°C 1 Minute

53°C 2 Minuten

72°C 3 Minuten

1X 72°C 10 Minuten

5

Die PCR-Amplifikation mit PR1 und PR2 resultierte in einem 1155 Bp-Fragment, das für ein Protein bestehend aus der gesamten Primärsequenz codiert:

10	gaagcatgca gctaggcggc acagtaatgt tggggcggct taccggaaac gctggggcac tcaaggagaa ggagaaggag gttgcaggca gctctgacgt gttgcgtaca tgccgaccc agtactcgct tccgtcggag ggttcggac agtgcggcgt cggccggccc gggactgaag aatgcctaca agccaccacc ttccgacaca aaggggcatca caatggcgct agctgtcata ggctcctgg ccggcgtgtt cttccacgccc attttcaaa tcaagcttcc gaccccttg gaccagctgc	60 120 180 240 300
15	actgggtgcc cgtgtcggat gccacagctc agctggtag cggcggcggc agccgtcgc acatcgctgt agtattttt gtcctggagt tcctgtacac aggcctttt atcaccacgc atgatgttat gcatggcacc atcgccatga gaaacaggca gcttaatgac ttcttggca gagttatgtcat ctccttgcac gcctggttt attacaacat gctgcaccgc aagcattgg agcaccacaa ccacactggc gaggtgggca aggaccctga cttccacagg gaaaccctg	360 420 480 540 600
20	gcatttgtgcc ctggtttgc agcttcatgt ccagctacat gtcgtatgtt cagttgcgc gcctcgcatg gtggacgggt gtcatgcgc tgcgtgggtgc gccaatggcg aacctgctgg tgttcatggc ggccggcccc atccctgtccg cttcccgctt gttctacttt ggacgtaca tgcccccacaa gcctggaccc ggccggcgctt caggcttc accagccgtc atgaactgg ggaagtcgcg cactagccag gcgtccgacc tggcgttgc tctgacccctgc taccacttcg	660 720 780 840 900
25	acctgcactg ggagcaccac cgctggccct ttggcccttgc gtggagctg cccaaactgccc ggccctgttc tggccggaggct ctgggttgc cctagctggc cacactgcag tggccctgc tgccagctgg gcatgcggat tggcgttgc ctgggttgc tggcgttgc tggccctgc tgccggacac gtcgtatggg ctaccctgtt tagctgcccgc cactaggggg gggggtttgc agctgtcgag ctggc	960 1020 1080 1140

30

Unter Verwendung von Standardmethoden wurde das Amplifikat in den PCR-Klonierungsvektor pGEM-Teasy (Promega) kloniert und der Klon pGKETO2 erhalten.

Sequenzierung des Klons pGKETO2 mit dem T7- und dem SP6-Primer bestätigte eine Sequenz, die sich lediglich in den drei Codons 73, 114 und 119 in je einer Base von der publizierten Sequenz X86782 unterscheidet. Diese Nukleotidaustausche wurden in einem unabhängigem Amplifikationsexperiment reproduziert und repräsentieren somit die Nukleotidsequenz im verwendeten Haematococcus pluvialis Stamm 192.80.

40 Dieser Klon wurde für die Expression der Ketolase von Haematococcus pluvialis verwendet. Die Transformation der E.coli Stämme, deren Kultivierung und die Analyse des Carotinoidprofils erfolgte wie in Beispiel 3 beschrieben.

Tabelle 1 zeigt einen Vergleich der bakteriell produzierten Carotinoidmengen:

45

Tablelle 1: Vergleich der bakteriellen Ketocarotinoid-Synthese bei Verwendung zweier verschiedener Ketolasen, der NOST-Ketolase aus *Nostoc* sp. PCC7120 (Beispiel 1) und der Ketolase aus *Haematococcus pluvialis* (Beispiel 4). Carotinoidmengen sind in

ng/ ml Kulturflüssigkeit angegeben.

Ketolase aus	Astaxanthin	Adonirubin	Adonixanthin	Canthaxanthin	Zeaxanthin
<i>Haematococcus pluvialis</i> Flotow em. Wille	13		102		738
<i>Nostoc sp. Strain</i> <i>PCC7120</i>	491	186		120	

Beispiel 5:

- 5 Amplifikation einer DNA, die die gesamte Primärsequenz der NP196-Ketolase aus *Nostoc punctiforme* ATCC 29133 kodiert

Die DNA, die für die NP196-Ketolase aus *Nostoc punctiforme* ATCC 29133 kodiert, wurde mittels PCR aus *Nostoc punctiforme* ATCC 29133 (Stamm der "American Type 10 Culture Collection") amplifiziert.

Für die Präparation von genomischer DNA aus einer Suspensionskultur von *Nostoc punctiforme* ATCC 29133, die 1 Woche mit Dauerlicht und konstantem Schütteln (150 rpm) at 25°C in BG 11-Medium (1,5 g/l NaNO₃, 0,04 g/l K₂PO₄·3H₂O, 0,075 g/l 15 MgSO₄·H₂O, 0,036 g/l CaCl₂·2H₂O, 0,006 g/l citric acid, 0,006 g/l Ferric ammonium citrate, 0,001 g/l EDTA disodium magnesium, 0,04 g/l Na₂CO₃, 1 ml Trace Metal Mix "A5+Co" (2,86 g/l H₃BO₃, 1,81 g/l MnCl₂·4H₂O, 0,222 g/l ZnSO₄·7H₂O, 0,39 g/l Na-MoO₄·2H₂O, 0,079 g/l CuSO₄·5H₂O, 0,0494 g/l Co(NO₃)₂·6H₂O)) gewachsen war, wurden die Zellen durch Zentrifugation geerntet, in flüssigem Stickstoff eingefroren und 20 im Mörser pulverisiert.

Protokoll für die DNA-Isolation aus *Nostoc punctiforme* ATCC 29133:

Aus einer 10 ml Flüssigkultur wurden die Bakterienzellen durch 10minütige Zentrifugation bei 8000 rpm pelletiert. Anschließend wurden die Bakterienzellen in flüssigem Stickstoff mit einem Mörser zerstoßen und gemahlen. Das Zellmaterial wurde in 1 ml 25 10mM Tris-HCl (pH 7.5) resuspendiert und in ein Eppendorf-Reaktionsgefäß (2ml Volumen) überführt. Nach Zugabe von 100 µl Proteinase K (Konzentration: 20 mg/ml) wurde die Zellsuspension für 3 Stunden bei 37°C inkubiert. Anschließend wurde die Suspension mit 500 µl Phenol extrahiert. Nach 5minütiger Zentrifugation bei 13000 upm wurde die obere, wässrige Phase in ein neues 2-ml-Eppendorf-Reaktionsgefäß überführt. Die Extraktion mit Phenol wurde 3mal wiederholt. Die DNA wurde durch Zugabe von 1/10 Volumen 3 M Natriumacetat (pH 5,2) und 0,6 Volumen Isopropanol gefällt und anschließend mit 70 % Ethanol gewaschen. Das DNA-Pellet wurde bei Raum- 30

temperatur getrocknet, in 25 µl Wasser aufgenommen und unter Erhitzung auf 65°C gelöst.

Die Nukleinsäure, kodierend eine Ketolase aus *Nostoc punctiforme* ATCC 29133, wurde mittels "polymerase chain reaction" (PCR) aus *Nostoc punctiforme* ATCC 29133 unter Verwendung eines sense-spezifischen Primers (NP196-1, SEQ ID No. 100) und eines antisense-spezifischen Primers (NP196-2 SEQ ID No. 101) amplifiziert.

Die PCR-Bedingungen waren die folgenden:

- 10 Die PCR zur Amplifikation der DNA, die für ein Ketolase Protein bestehend aus der gesamten Primärsequenz kodiert, erfolgte in einem 50 ul Reaktionsansatz, in dem enthalten war:
- 15 - 1 ul einer *Nostoc punctiforme* ATCC 29133 DNA (hergestellt wie oben beschrieben)
- 0.25 mM dNTPs
- 0.2 mM NP196-1 (SEQ ID No. 100)
- 0.2 mM NP196-2 (SEQ ID No. 101)
- 5 ul 10X PCR-Puffer (TAKARA)
- 20 - 0.25 ul R Taq Polymerase (TAKARA)
- 25.8 ul Aq. Dest.

Die PCR wurde unter folgenden Zyklusbedingungen durchgeführt:

- 25 1X94°C 2 Minuten
35X 94°C 1 Minute
55°C 1 Minuten
72°C 3 Minuten
1X72°C 10 Minuten

30 Die PCR-Amplifikation mit SEQ ID No. 100 und SEQ ID No. 101 resultierte in einem 792 Bp-Fragment, das für ein Protein bestehend aus der gesamten Primärsequenz kodiert (NP196, SEQ ID No. 102). Unter Verwendung von Standardmethoden wurde das Amplifikat in den PCR-Klonierungsvektor pCR 2.1 (Invitrogen) kloniert und der 35 Klon pNP196 erhalten.

Sequenzierung des Klons pNP196 mit dem M13F- und dem M13R-Primer bestätigte eine Sequenz, welche mit der DNA-Sequenz von 140.571-139.810 des Datenbank-eintrages NZ_AABC01000196 identisch ist (inverse orientiert zum veröffentlichten Datenbankeintrag) mit der Ausnahme, daß G in Position 140.571 durch A

ersetzt wurde, um ein Standard-Startkodon ATG zu erzeugen. Diese Nukleotidsequenz wurde in einem unabhängigem Amplifikationsexperiment reproduziert und repräsentiert somit die Nukleotidsequenz im verwendeten *Nostoc punctiforme* ATCC 29133.

- 5 Dieser Klon pNP196 wurde daher für die Klonierung in den Expressionsvektor pJIT117(Guerineau et al. 1988, Nucl. Acids Res. 16: 11380) verwendet.

pJIT117 wurde modifiziert, indem der 35S-Terminator durch den OCS-Terminator (Octopine Synthase) des Ti-Plasmides pTi15955 von Agrobacterium tumefaciens (Datenbankeintrag X00493 von Position 12,541-12,350, Gielen et al. (1984) EMBO J. 3 835-846) ersetzt wurde.

Das DNA-Fragment, das die OCS-Terminatorregion beinhaltet, wurde mittels PCR unter Verwendung des Plasmides pHETSGATE (Datenbankeintrag AJ311874, Wesley et al. (2001) Plant J. 27 581-590, nach Standardmethoden aus *E.coli* isoliert) sowie der Primer OCS-1 (SEQ ID No. 133) und OCS-2 (SEQ ID No. 134) hergestellt.

Die PCR-Bedingungen waren die folgenden:

- 20 Die PCR zur Amplifikation der DNA, die die Octopin Synthase (OCS) Terminatorregion (SEQ ID No. 106) beinhaltet, erfolgte in einem 50 ul Reaktionsansatz, in dem enthalten waren:
- 100 ng pHETSGATE plasmid DNA
25 - 0.25 mM dNTPs
- 0.2 mM OCS-1 (SEQ ID No. 104)
- 0.2 mM OCS-2 (SEQ ID No. 105)
- 5 ul 10X PCR-Puffer (Stratagene)
- 0.25 ul Pfu-Polymerase (Stratagene)
30 - 28.8 ul Aq. Dest.

Die PCR wurde unter folgenden Zyklusbedingungen durchgeführt:

- 1X94°C 2 Minuten
35 35X 94°C 1 Minute
50°C 1 Minute
72°C 1 Minute
1X72°C 10 Minuten

Das 210 bp Amplifikat wurde unter Verwendung von Standardmethoden in den PCR-Klonierungsvektor pCR 2.1 (Invitrogen) kloniert und das Plasmid pOCS erhalten.

- Sequenzierung des Klons pOCS bestätigte eine Sequenz, die mit einem Sequenzabschnitt auf dem Ti-Plasmid pTi15955 von Agrobacterium tumefaciens (Datenbankeintrag X00493) von Position 12.541 bis 12.350 übereinstimmt.

Die Klonierung erfolgte durch Isolierung des 210 bp Sall-Xhol Fragmentes aus pOCS und Ligierung in den Sall-Xhol geschnittenen Vektor pJIT117.

- 10 Dieser Klon heisst pJO und wurde daher für die Klonierung in den Expressionsvektor pJONP196 verwendet.

- 15 Die Klonierung erfolgte durch Isolierung des 782 Bp SphI-Fragmentes aus pNP196 und Ligierung in den SphI geschnittenen Vektor pJO. Der Klon, der die NP196-Ketolase von *Nostoc punctiforme* in der korrekten Orientierung als N-terminale translationale Fusion mit dem rbcS Transitpeptid enthält, heisst pJONP196.

Beispiel 6:

- 20 Herstellung von Expressionsvektoren zur konstitutiven Expression der NP196-Ketolase aus *Nostoc punctiforme* ATCC 29133 in *Lycopersicon esculentum* und *Tagetes erecta*.

- Die Expression der NP196-Ketolase aus *Nostoc punctiforme* in *L. esculentum* und in *Tagetes erecta* erfolgte unter Kontrolle des konstitutiven Promotors FNR (Ferredoxin-25 NADPH- Oxidoreductase, Datenbankeintrag AB011474 Position 70127 bis 69493; WO03/006660), aus *Arabidopsis thaliana*. Das FNR-Gen beginnt bei Basenpaar 69492 und ist mit "Ferredoxin-NADP+ Reductase" annotiert. Die Expression erfolgte mit dem Transitpeptid rbcS aus Erbse (Anderson et al. 1986, Biochem J. 240:709-715).

- 30 Das DNA Fragment, das die FNR Promotorregion aus *Arabidopsis thaliana* beinhaltet, wurde mittels PCR unter Verwendung genomicscher DNA (nach Standardmethoden aus *Arabidopsis thaliana* isoliert) sowie der Primer FNR-1 (SEQ ID No. 107) und FNR-2 (SEQ ID No. 108) hergestellt.

- 35 Die PCR-Bedingungen waren die folgenden:

Die PCR zur Amplifikation der DNA, die das FNR-Promotorfragment FNR (SEQ ID No. 109) beinhaltet, erfolgte in einem 50 ul Reaktionsansatz, in dem enthalten war:

- 40 - 100 ng genomicscher DNA aus *A.thaliana*

- 0.25 mM dNTPs
 - 0.2 mM FNR-1 (SEQ ID No. 107)
 - 0.2 mM FNR-2 (SEQ ID No. 108)
 - 5 ul 10X PCR-Puffer (Stratagene)
- 5 - 0.25 ul Pfu Polymerase (Stratagene)
- 28.8 ul Aq. Dest.

Die PCR wurde unter folgenden Zyklusbedingungen durchgeführt:

10 1X94°C 2 Minuten
35X 94°C 1 Minute
50°C 1 Minute
72°C 1 Minute
1X72°C 10 Minuten

15 Das 652 bp Amplifikat wurde unter Verwendung von Standardmethoden in den PCR-Klonierungsvektor pCR 2.1 (Invitrogen) kloniert und das Plasmid pFNR erhalten.

20 Sequenzierung des Klons pFNR bestätigte eine Sequenz, die mit einem Sequenzabschnitt auf Chromosom 5 von *Arabidopsis thaliana* (Datenbankeintrag AB011474) von Position 70127 bis 69493 übereinstimmt.

Dieser Klon heisst pFNR und wurde daher für die Klonierung in den Expressionsvektor pJONP196 (in Beispiel 5 beschrieben) verwendet.

25 Die Klonierung erfolgte durch Isolierung des 644 bp SmaI-HindIII Fragmentes aus pFNR und Ligierung in den Ecl136II-HindIII geschnittenen Vektor pJONP196. Der Klon, der den Promotor FNR anstelle des ursprünglichen Promotors d35S und das Fragment NP196 in der korrekten Orientierung als N-terminale Fusion mit dem rbcS Transitpeptid enthält, heisst pJOFNR:NP196.

30 Die Herstellung einer Expressionskassette für die Agrobacterium vermittelte Transformation der NP196-Ketolase aus *Nostoc* in *L. esculentum* erfolgte unter der Verwendung des binären Vektors pSUN3 (WO02/00900).

35 Zur Herstellung des Expressionsvektors MSP105 wurde das 1.839 bp EcoRI-Xhol Fragment aus pJOFNR:NP196 mit dem EcoRI-Xhol geschnittenen Vektor pSUN3 ligiert. Der Expressionsvektor MSP105 enthält Fragment FNR Promotor den FNR Promotor (635 bp), Fragment rbcS TP FRAGMENT das rbcS Transitpeptid aus Erbse (194 bp), Fragment NP196 KETO CDS (761 bp), kodierend für die *Nostoc punctiforme*

NP196-Ketolase , Fragment OCS Terminator (192 bp) das Polyadenylierungssignal von der Octopin- Synthase.

Die Herstellung einer Expressionskassette für die *Agrobacterium*-vermittelte Transformation des Expressionsvektor mit der NP196-Ketolase aus *Nostoc punctiforme* in *Tagetes erecta* erfolgte unter der Verwendung des binären Vektors pSUN5 (WO02/00900).

Zur Herstellung des *Tagetes*-Expressionsvektors MSP106 wurde das 1.839 bp EcoRI-Xhol Fragment aus pJOFNR:NP196 mit dem EcoRI-Xhol geschnittenen Vektor pSUN5 ligiert . MSP106 beinhaltet Fragment *FNR Promotor* den FNR Promotor (635 bp), Fragment *rbcS TP FRAGMENT* das rbcS Transitpeptid aus Erbse (194 bp), Fragment *NP196 KETO CDS* (761 bp), kodierend für die *Nostoc punctiforme* NP196-Ketolase , Fragment OCS Terminator (192 bp) das Polyadenylierungssignal von Octopin-Synthase.

Beispiel 7:

Herstellung von Expressionsvektoren zur blütenspezifischen Expression der NP196-Ketolase aus *Nostoc punctiforme* ATCC 29133 in *Lycopersicon esculentum* und *Tagetes erecta*

Die Expression der NP196-Ketolase aus *Nostoc punctiforme* in *L. esculentum* und *Tagetes erecta* erfolgte mit dem Transitpeptid rbcS aus Erbse (Anderson et al. 1986, Biochem J. 240:709-715). Die Expression erfolgte unter Kontrolle des blütenspezifischen Promoters EPSPS aus Petunia hybrida (Datenbankeintrag M37029: Nukleotidregion 7-1787; Benfey et al. (1990) Plant Cell 2: 849-856).

Das DNA Fragment, das die EPSPS Promotorregion (SEQ ID No. 112) aus Petunia hybrida beinhaltet, wurde mittels PCR unter Verwendung genomicscher DNA (nach Standardmethoden aus Petunia hybrida isoliert) sowie der Primer EPSPS-1 (SEQ ID No. 110) und EPSPS-2 (SEQ ID No. 111) hergestellt.

Die PCR-Bedingungen waren die folgenden:

35 Die PCR zur Amplifikation der DNA, die das EPSPS-Promotorfragment (Datenbankeintrag M37029: Nukleotidregion 7-1787) beinhaltet, erfolgte in einem 50 µl Reaktionsansatz, in dem enthalten war:
- 100 ng genomicscher DNA aus *A.thaliana*
40 - 0.25 mM dNTPs

- 0.2 mM EPSPS-1 (SEQ ID No. 110)
 - 0.2 mM EPSPS-2 (SEQ ID No. 111)
 - 5 ul 10X PCR-Puffer (Stratagene)
 - 0.25 ul Pfu Polymerase (Stratagene)
- 5 - 28.8 ul Aq. Dest.

Die PCR wurde unter folgenden Zyklusbedingungen durchgeführt:

1X94°C 2 Minuten

10 35X 94°C 1 Minute

50°C 1 Minute

72°C 2 Minuten

1X72°C 10 Minuten

15 Das 1773 Bp Amplifikat wurde unter Verwendung von Standardmethoden in den PCR-Klonierungsvektor pCR 2.1 (Invitrogen) kloniert und das Plasmid pEPSPS erhalten.

Sequenzierung des Klons pEPSPS bestätigte eine Sequenz, die sich lediglich durch zwei Deletion (Basen ctaagttcagga in Position 46-58 der Sequenz M37029; Basen 20 aaaaatat in Position 1422-1429 der Sequenz M37029) und die Basenaustausche (T statt G in Position 1447 der Sequenz M37029; A statt C in Position 1525 der Sequenz M37029; A statt G in Position 1627 der Sequenz M37029) von der publizierten EPSPS-Sequenz (Datenbankeintrag M37029: Nukleotidregion 7-1787) unterscheidet. Die zwei Deletionen und die zwei Basenaustausche an den Positionen 1447 und 1627 der Sequenz M37029 wurden in einem unabhängigen Amplifikationsexperiment reproduziert 25 und repräsentieren somit die tatsächliche Nukleotidsequenz in den verwendeten Petunia hybrida Pflanzen.

Der Klon pEPSPS wurde daher für die Klonierung in den Expressionsvektor pJONP196 30 (in Beispiel 5 beschrieben) verwendet.

Die Klonierung erfolgte durch Isolierung des 1763 Bp SacI-HindIII Fragmentes aus pEPSPS und Ligierung in den SacI-HindIII geschnittenen Vektor pJONP196. Der Klon, der den Promotor EPSPS anstelle des ursprünglichen Promotors d35S enthält, heisst 35 pJOESP:NP196. Diese Expressionskassette enthält das Fragment NP196 in der korrekten Orientierung als N-terminale Fusion mit dem rbcS-Transitpeptid.

Die Herstellung eines Expressionsvektors für die Agrobacterium-vermittelte Transformation der EPSPS-kontrollierten NP196-Ketolase aus *Nostoc punctiforme* ATCC 40 29133 in *L. esculentum* erfolgte unter der Verwendung des binären Vektors pSUN3

(WO02/00900).

Zur Herstellung des Expressionsvektors MSP107 wurde das 2.961 KB bp SacI-Xhol Fragment aus pJOESP:NP196 mit dem SacI-Xhol geschnittenen Vektor pSUN3 ligiert.

- 5 Der Expressionsvektor MSP107 beinhaltet Fragment EPSPS den EPSPS Promotor (1761 bp), Fragment *rbcS TP FRAGMENT* das *rbcS* Transitpeptid aus Erbse (194 bp), Fragment *NP196 KETO CDS* (761 bp), kodierend für die *Nostoc punctiforme* NP196-Ketolase, Fragment *OCS Terminator* (192 bp) das Polyadenylierungssignal von Octopin-Synthase.

10

Die Herstellung einer Expressionsvektors für die Agrobacterium-vermittelte Transformation der EPSPS-kontrollierten NP196-Ketolase aus *Nostoc punctiforme* in *Tagetes erecta* erfolgte unter der Verwendung des binären Vektors pSUN5 (WO02/00900).

- 15 Zur Herstellung des Expressionsvektors MSP108 wurde das 2.961 KB bp SacI-Xhol Fragment aus pJOESP:NP196 mit dem SacI-Xhol geschnittenen Vektor pSUN5 ligiert. Der Expressionsvektor MSP108 beinhaltet Fragment EPSPS den EPSPS Promotor (1761 bp), Fragment *rbcS TP FRAGMENT* das *rbcS* Transitpeptid aus Erbse (194 bp), Fragment *NP196 KETO CDS* (761 bp), kodierend für die *Nostoc punctiforme* NP196-Ketolase, Fragment *OCS Terminator* (192 bp) das Polyadenylierungssignal von Octopin-Synthase.

Beispiel 8:

- Amplifikation einer DNA, die die gesamte Primärsequenz der NP195-Ketolase aus
25 *Nostoc punctiforme* ATCC 29133 kodiert

Die DNA, die für die NP195-Ketolase aus *Nostoc punctiforme* ATCC 29133 kodiert, wurde mittels PCR aus *Nostoc punctiforme* ATCC 29133 (Stamm der "American Type Culture Collection") amplifiziert. Die Präparation von genomischer DNA aus einer Suspensionskultur von *Nostoc punctiforme* ATCC 29133 wurde in Beispiel 5 beschrieben.

Die Nukleinsäure, kodierend eine Ketolase aus *Nostoc punctiforme* ATCC 29133, wurde mittels "polymerase chain reaction" (PCR) aus *Nostoc punctiforme* ATCC 29133 unter Verwendung eines sense-spezifischen Primers (NP195-1, SEQ ID No. 113) und eines antisense-spezifischen Primers (NP195-2 SEQ ID No. 114) amplifiziert.

Die PCR-Bedingungen waren die folgenden:

Die PCR zur Amplifikation der DNA, die für ein Ketolase Protein bestehend aus der gesamten Primärsequenz kodiert, erfolgte in einem 50 ul Reaktionsansatz, in dem ent-

halten war:

- 1 μ l einer *Nostoc punctiforme* ATCC 29133 DNA (hergestellt wie oben beschrieben)
- 0.25 mM dNTPs

- 5 - 0.2 mM NP195-1 (SEQ ID No. 113)
- 0.2 mM NP195-2 (SEQ ID No. 114)
- 5 μ l 10X PCR-Puffer (TAKARA)
- 0.25 μ l R Taq Polymerase (TAKARA)
- 25.8 μ l Aq. Dest.

10

Die PCR wurde unter folgenden Zyklusbedingungen durchgeführt:

1X94°C 2 Minuten

35X94°C 1 Minute

15 55°C 1 Minuten

72°C 3 Minuten

1X72°C 10 Minuten

- Die PCR-Amplifikation mit SEQ ID No. 113 und SEQ ID No. 114 resultierte in einem
20 819 Bp-Fragment, das für ein Protein bestehend aus der gesamten Primärsequenz
kodiert (NP195, SEQ ID No. 115). Unter Verwendung von Standardmethoden wurde
das Amplifikat in den PCR-Klonierungsvektor pCR 2.1 (Invitrogen) kloniert und der
Klon pNP195 erhalten.

- 25 Sequenzierung des Klons pNP195 mit dem M13F- und dem M13R-
Primer bestätigte eine Sequenz, welche mit der DNA-Sequenz von 55,604-56,392 des
Datenbank-eintrages NZ_AABC010001965 identisch ist, mit der Ausnahme, daß T in
Position 55.604 durch A ersetzt wurde, um ein Standard-Startkodon ATG zu erzeugen.
Diese Nukleotidsequenz wurde in einem unabhängigem Amplifikationsexperiment re-
30 produziert und repräsentiert somit die Nukleotidsequenz im verwendeten *Nostoc punctiforme* ATCC 29133.

- Dieser Klon pNP195 wurde daher für die Klonierung in den Expressionsvektor pJO (in
Beispiel 5 beschrieben) verwendet. Die Klonierung erfolgte durch Isolierung des 809
35 Bp SphI-Fragments aus pNP195 und Ligierung in den SphI geschnittenen Vektor
pJO. Der Klon, der die NP195-Ketolase von *Nostoc punctiforme* in der korrekten Orientierung als N-terminale translationale Fusion mit dem rbcS Transitpeptid enthält, heißt pJONP195.

- 40 Beispiel 9:

Herstellung von Expressionsvektoren zur konstitutiven Expression der NP195-Ketolase aus *Nostoc punctiforme* ATCC 29133 in *Lycopersicon esculentum* und *Tagetes erecta*.

Die Expression der NP195-Ketolase aus *Nostoc punctiforme* in *L. esculentum* und in
5 *Tagetes erecta* erfolgte unter Kontrolle des konstitutiven Promotors FNR (Ferredoxin-NADPH-Oxidoreductase, Datenbankeintrag AB011474 Position 70127 bis 69493; WO03/006660), aus *Arabidopsis thaliana*. Das FNR-Gen beginnt bei Basenpaar 69492 und ist mit "Ferredoxin-NADP+ Reductase" annotiert. Die Expression erfolgte mit dem Transitpeptid rbcS aus Erbse (Anderson et al. 1986, Biochem J. 240:709-715).

10 Der Klon pFNR (in Beispiel 6 beschrieben) wurde daher für die Klonierung in den Expressionsvektor pJONP195 (in Beispiel 8 beschrieben) verwendet.

Die Klonierung erfolgte durch Isolierung des 644 bp Sma-
15 HindIII Fragmentes aus pFNR und Ligierung in den Ecl136II-HindIII geschnittenen Vektor pJONP195. Der Klon, der den Promotor FNR anstelle des ursprünglichen Promotors d35S und das Fragment NP195 in der korrekten Orientierung als N-terminale Fusion mit dem rbcS Transitpeptid enthält, heisst pJOFNR:NP195.

20 Die Herstellung einer Expressionskassette für die Agrobacterium vermittelte Transformation der NP195-Ketolase aus *Nostoc punctiforme* in *L. esculentum* erfolgte unter der Verwendung des binären Vektors pSUN3 (WO02/00900).

25 Zur Herstellung des Expressionsvektors MSP109 wurde das 1.866 bp EcoRI-Xhol Fragment aus pJOFNR:NP195 mit dem EcoRI-Xhol geschnittenen Vektor pSUN3 ligiert: Der Expressionsvektor MSP109 beinhaltet Fragment *FNR Promotor* den FNR Promotor (635 bp), Fragment *rbcS TP FRAGMENT* das rbcS Transitpeptid aus Erbse (194 bp), Fragment *NP195 KETO CDS* (789 bp), kodierend für die *Nostoc punctiforme* 30 NP195-Ketolase, Fragment *OCS Terminator* (192 bp) das Polyadenylierungssignal von der Octopin-Synthase.

35 Die Herstellung einer Expressionskassette für die Agrobacterium-vermittelte Transformation des Expressionsvektor mit der NP195-Ketolase aus *Nostoc punctiforme punctiforme* in *Tagetes erecta* erfolgte unter der Verwendung des binären Vektors pSUN5 (WO 02/00900).

40 Zur Herstellung des *Tagetes*-Expressionsvektors MSP110 wurde das 1.866 bp EcoRI-Xhol Fragment aus pJOFNR:NP195 mit dem EcoRI-Xhol geschnittenen Vektor pSUN5 ligiert. Der Expressionsvektor MSP110 beinhaltet Fragment *FNR Promotor* den FNR

Promotor (635 bp), Fragment rbcS TP FRAGMENT das rbcS Transitpeptid aus Erbse (194 bp), Fragment NP195 KETO CDS (789 bp), kodierend für die *Nostoc punctiforme* NP195-Ketolase, Fragment OCS Terminator (192 bp) das Polyadenylierungssignal von Octopin-Synthase.

5

Beispiel 10:

Herstellung von Expressionsvektoren zur blütenspezifischen Expression der NP195-Ketolase aus *Nostoc punctiforme* ATCC 29133 in *Lycopersicon esculentum* und *Tagetes erecta*.

10

Die Expression der NP195-Ketolase aus *Nostoc punctiforme* in *L. esculentum* und *Tagetes erecta* erfolgte mit dem Transitpeptid rbcS aus Erbse (Anderson et al. 1986, Biochem J. 240:709-715). Die Expression erfolgte unter Kontrolle des blütenspezifischen Promotors EPSPS aus *Petunia hybrida* (Datenbankeintrag M37029: Nukleotidregion 7-

15

1787; Benfey et al. (1990) Plant Cell 2: 849-856).

Der Klon pEPSPS (in Beispiel 7 beschrieben) wurde daher für die Klonierung in den Expressionsvektor pJONP195 (in Beispiel 8 beschrieben) verwendet.

20

Die Klonierung erfolgte durch Isolierung des 1763 Bp Sacl-HindIII Fragmentes aus pEPSPS und Ligierung in den Sacl-HindIII geschnittenen Vektor pJONP195. Der Klon, der den Promotor EPSPS anstelle des ursprünglichen Promotors d35S enthält, heißt pJOESP:NP195. Diese Expressionskassette enthält das Fragment NP195 in der korrekten Orientierung als N-terminale Fusion mit dem rbcS-Transitpeptid.

25

Die Herstellung eines Expressionsvektors für die Agrobacterium-vermittelte Transformation der EPSPS-kontrollierten NP195-Ketolase aus *Nostoc punctiforme* ATCC 29133 in *L. esculentum* erfolgte unter der Verwendung des binären Vektors pSUN3 (WO02/00900).

30

Zur Herstellung des Expressionsvektors MSP111 wurde das 2.988 KB bp Sacl-Xhol Fragment aus pJOESP:NP195 mit dem Sacl-Xhol geschnittenen Vektor pSUN3 ligiert. Der Expressionsvektor MSP111 beinhaltet Fragment EPSPS den EPSPS Promotor (1761 bp), Fragment rbcS TP FRAGMENT das rbcS Transitpeptid aus Erbse (194 bp), Fragment NP195 KETO CDS (789 bp), kodierend für die *Nostoc punctiforme* NP195-Ketolase, Fragment OCS Terminator (192 bp) das Polyadenylierungssignal von Octopin-Synthase.

Die Herstellung einer Expressionsvektors für die Agrobacterium-vermittelte Transformation der EPSPS-kontrollierten NP195-Ketolase aus *Nostoc punctiforme* in *Tagetes erecta* erfolgte unter der Verwendung des binären Vektors pSUN5 (WO02/00900).

- 5 Zur Herstellung des Expressionsvektors MSP112 wurde das 2.988 KB bp SacI-Xhol Fragment aus pJOESP:NP195 mit dem SacI-Xhol geschnittenen Vektor pSUN5 ligiert. Der Expressionsvektor MSP112 beinhaltet Fragment EPSPS den EPSPS Promotor (1761 bp), Fragment *rbcS TP FRAGMENT* das *rbcS* Transitpeptid aus Erbse (194 bp), Fragment *NP195 KETO CDS* (789 bp), kodierend für die *Nostoc punctiforme* NP195-
10 Ketolase, Fragment *OCS Terminator* (192 bp) das Polyadenylierungssignal von Octopin-Synthase.

Beispiel 11:

- Herstellung einer Expressionskassette zur blütenspezifischen Überexpression der
15 chromoplastenspezifischen Beta-Hydroxylase aus *Lycopersicon esculentum*.

Die Expression der chromoplastenspezifischen Beta-Hydroxylase aus *Lycopersicon esculentum* in *Tagetes erecta* erfolgt unter Kontrolle des blütenspezifischen Promotors EPSPS aus Petunie (Beispiel 7). Als Terminatorelement wird LB3 aus *Vicia faba* verwendet. Die Sequenz der chromoplastenspezifischen Beta-Hydroxylase wurde durch RNA Isolierung, reverse Transkription und PCR hergestellt.
20

Für die Herstellung der LB3-Terminator-Sequenz aus *Vicia faba* wird genomische DNA aus *Vicia faba*-Gewebe nach Standardmethoden isoliert und durch genomische PCR unter Verwendung der Primer PR206 und PR207 eingesetzt. Die PCR zur Amplifikation dieses LB3 DNA-Fragmentes, erfolgt in einem 50 ul Reaktionsansatz, in dem enthalten ist:
25

- 1 ul cDNA (hergestellt wie oben beschrieben)
30 - 0.25 mM dNTPs
- 0.2 uM PR206 (SEQ ID No. 116)
- 0.2 uM PR207 (SEQ ID No. 117)
- 5 ul 10X PCR-Puffer (TAKARA)
- 0.25 ul R Taq Polymerase (TAKARA)
35 - 28.8 ul Aq. Dest.

Die PCR-Amplifikation mit PR206 und PR207 resultiert in einem 0.3 kb Fragment das für den LB-Terminator enthaelt. Das Amplifikat wird in den Klonierungsvektor pCR-BluntII (Invitrogen) kloniert. Sequenzierungen mit den Primern T7 und M13 bestätigen
40 eine zur Sequenz SEQ ID: 118 identische Sequenz. Dieser Klon heisst pTA-LB3 und

wird daher für die Klonierung in den Vektor pJIT117 verwendet (siehe unten).

- Für die Herstellung der Beta-Hydroxylase-Sequenz wird Total-RNA aus Tomate präpariert. Dazu werden 100 mg der gefrorenen, pulverisierten Blüten in ein Reaktionsgefäß 5 überführt und in 0,8 ml Trizol-Puffer (LifeTechnologies) aufgenommen. Die Suspension wird mit 0,2 ml Chloroform extrahiert. Nach 15 minütiger Zentrifugation bei 12000 g wird der wässrige Überstand abgenommen und in ein neues Reaktionsgefäß überführt und mit einem Volumen Ethanol extrahiert. Die RNA wird mit einem Volumen Isopropanol gefällt, mit 75 % Ethanol gewaschen und das Pellet in DEPC Wasser (über 10 Nacht Inkubation von Wasser mit 1/1000 Volumen Diethylpyrocarbonat bei Raumtemperatur, anschließend autoklaviert) gelöst. Die RNA-Konzentration wird photometrisch bestimmt. Für die cDNA-Synthese werden 2,5 ug Gesamt-RNA für 10 min bei 60°C 15 denaturiert, für 2 min auf Eis abgekühlt und mittels eines cDNA-Kits (Ready-to-go-you-prime-beads, Pharmacia Biotech) nach Herstellerangaben unter Verwendung eines antisense spezifischen Primers (PR215 SEQ ID No. 119) in cDNA umgeschrieben.

Die Bedingungen der anschließenden PCR-Reaktionen sind die folgenden:

- Die PCR zur Amplifikation des VPR203-PR215 DNA-Fragmentes, das für die Beta-20 Hydroxylase kodiert, erfolgt in einem 50 ul Reaktionsansatz, in dem enthalten war:

- 1 ul cDNA (hergestellt wie oben beschrieben)
 - 0.25 mM dNTPs
 - 0.2 uM VPR203 (SEQ ID No. 120)
 - 25 - 0.2 uM PR215 (SEQ ID No. 119)
 - 5 ul 10X PCR-Puffer (TAKARA)
 - 0.25 ul R Taq Polymerase (TAKARA)
 - 28.8 ul Aq. Dest.
- 30 Die PCR-Amplifikation mit VPR203 und PR215 resultiert in einem 0.9 kb Fragment das für die Beta-Hydroxylase kodiert. Das Amplifikat wird in den Klonierungsvektor pCR-BluntII (Invitrogen) kloniert. Sequenzierungen mit den Primern T7 und M13 bestätigen eine zur Sequenz SEQ ID No. 121 identische Sequenz. Dieser Klon heisst pTA-CrtR-b2 und wird daher für die Klonierung in den Vektor pCSP02 verwendet (siehe unten).
- 35 Die EPSPS-Promotor-Sequenz aus Petunie wird durch PCR Amplifikation unter Verwendung des Plasmides MSP107 (s. Beispiel 7) und der Primer VPR001 und VPR002 hergestellt. Die PCR zur Amplifikation dieses EPSPS-DNA-Fragmentes, erfolgt in einem 50 ul Reaktionsansatz, in dem enthalten ist:
- 40

- 1 μ l cDNA (hergestellt wie oben beschrieben)
 - 0.25 mM dNTPs
 - 0.2 μ M VPR001 (SEQ ID No. 122)
 - 0.2 μ M VPR002 (SEQ ID No. 123)
- 5 - 5 μ l 10X PCR-Puffer (TAKARA)
- 0.25 μ l R Taq Polymerase (TAKARA)
 - 28.8 μ l Aq. Dest.

- Die PCR-Amplifikation mit VPR001 und VPR002 resultiert in einem 1.8 kb Fragment
10 das den EPSPS-Promotor kodiert. Das Amplifikat wird in den Klonierungsvektor pCR-BluntII (Invitrogen) kloniert. Sequenzierungen mit den Primern T7 und M13 bestätigen eine zur Sequenz SEQ ID: 124 identische Sequenz. Dieser Klon heisst pTA-EPSPS und wird daher für die Klonierung in den Vektor pCSP03 verwendet (siehe unten).
- 15 Der erste Klonierungsschritt erfolgt durch Isolierung des 0,3 kb PR206-PR207 EcoRI-Xhol Fragmentes aus pTA-LB3, abgeleitet vom Klonierungsvektor pCR-BluntII (Invitrogen), und Ligierung mit dem EcoRI-Xhol geschnittenen Vektor pJIT117. Der Klon, der den 0,3 kb Terminator LB3 enthält, heisst pCSP02.
- 20 Der zweite Klonierungsschritt erfolgt durch Isolierung des 0,9 kb VPR003-PR215 Eco-RI-HindIII Fragmentes aus pTA-CrtR-b2, abgeleitet vom Klonierungsvektor pCR-BluntII (Invitrogen), und Ligierung mit dem EcoRI-HindIII geschnittenen Vektor pCSP02. Der Klon, der das 0,9 kb Beta-Hydroxylase-Fragment CrtR-b2 enthält, heisst pCSP03. Durch die Ligation entsteht eine transkriptionelle Fusion zwischen dem Terminator LB3
25 und dem Beta-Hydroxylase-Fragment CrtR-b2.
- Der dritte Klonierungsschritt erfolgt durch Isolierung des 1,8 kb VPR001-VPR002 Ncol-SacI Fragmentes aus pTA-EPSPS, abgeleitet vom Klonierungsvektor pCR-BluntII (Invitrogen), und Ligierung mit dem Ncol-SacI geschnittenen Vektor pCSP03. Der Klon,
30 der das 1,8 kb EPSPS Promotor-Fragment enthält, heisst pCSP04. Durch die Ligation entsteht eine transkriptionelle Fusion zwischen dem EPSPS-Promotor und dem Beta-Hydroxylase-Fragment CrtR-b2. pCSP04 beinhaltet Fragment EPSPS (1792 bp) den EPSPS Promotor, das Fragment crtRb2 (929 bp) die Beta-Hydroxylase CrtRb2, Fragment LB3 (301 bp) den LB3 Terminator.
- 35 Zur Klonierung dieser Hydroxylase-Überexpressionskassette in Expressionsvektoren für die Agrobacterium-vermittelte Transformation von *Tagetes erecta* wird die Beta-Hydroxylase-Kassette als 3103 bp Ecl136II-Xhol Fragmentes isoliert. Das Auffüllen der 3'Enden (30 min bei 30°C) erfolgt nach Standardmethoden (Klenow-fill-in).

Der Expressionsvektor heißt pCSEbhyd

Beispiel 12:

Herstellung von Expressionsvektoren zur blütenspezifischen Expression der chro-

- 5 moplastenspezifischen Lycopin Beta-Cyclase aus *Lycopersicon esculentum* unter Kontrolle des Promotors P76 und zur blütenspezifischen Expression der Ketolase NP196 aus *Nostoc punctiforme* ATCC 29133 unter Kontrolle des EPSPS Promotors

Isolation von Promotor P76 (SEQ ID NO. 125) mittels PCR mit genomicscher DNA von

- 10 *Arabidopsis thaliana* als Matrize.

Hierzu wurden die Oligonukleotid Primer P76for (SEQ ID NO. 126) und P76rev (SEQ ID NO. 127) verwendet. Die Oligonukleotide wurden bei der Synthese mit einem 5' Phosphatrest versehen.

- 15 P76 for 5'-CCCGGGTGCCAAAGTAACCTTTAT-3'

P76 rev 5'-GTCGACAGGTGCATGACCAAGTAAC-3'

Die genomicische DNA wurde aus *Arabidopsis thaliana* wie beschrieben (Galbiati M et al. Funct. Integr. Genomics 2000, 20 1:25-34) isoliert.

- 20

Die PCR Amplifikation wurde wie folgt durchgeführt:

80 ng genomiche DNA

1x Expand Long Template PCR Puffer

- 25 2,5 mM MgCl₂

je 350 µM dATP, dCTP, dGTP, dTTP

je 300 nM eines jeden Primers

2,5 Units Expand Long Template Polymerase

in einem Endvolumen von 25 µl

- 30

Folgendes Temperaturprogramm wird verwendet:

1 Zyklus mit 120 sec bei 94°C

35 Zyklen mit 94°C für 10 sec,

- 35 48°C für 30 sec und

68°C für 3 min

1 Zyklus mit 68°C für 10 min

Das PCR Produkt wird mit Agarosegelektrophorese aufgetrennt und das 1032 bp Fragment durch Gelelution isoliert.

Der Vektor pSun5 wird mit der Restriktionsendonuklease EcoRV verdaut und ebenfalls

5 über Agarosegelektrophorese aufgereinigt und durch Gelelution gewonnen.

Das gereinigte PCR Produkt wird in den so behandelten Vektor kloniert.

Dieses Konstrukt wird mit p76 bezeichnet. Das 1032 bp lange Fragment, welches den

10 Promotor P76 aus Arabidopsis darstellt, wurde sequenziert (Seq ID NO. 131).

Der Terminator 35ST wird aus pJIT 117 durch Verdau mit den Restriktionsendonukleasen KpnI und SmaI gewonnen. Das hierbei entstehende 969 bp Fragment wird mit Agarosegelektrophorese gereinigt und durch Gelelution isoliert.

15 Der Vektor p76 wird ebenfalls mit den Restriktionsendonukleasen KpnI und SmaI verdaut. Das entstehende 7276bp Fragment wird mit Agarosegelektrophorese gereinigt und durch Gelelution isoliert.

Das so gewonnene 35ST- Fragment wird in den so behandelten p76 kloniert.

Der entstehende Vektor wird mit p76_35ST bezeichnet.

20

Die Isolation des Bgene (SEQ ID NO. 128) erfolgte mittels PCR mit genomischer DNA von Lycopersicon esculentum als Matrize.

25 Hierzu wurden die Oligonukleotid Primer BgeneFor (SEQ ID NO. 129) und BgeneRev (SEQ ID NO. 130) verwendet. Die Oligonukleotide wurden bei der Synthese mit einem 5' Phosphatrest versehen.

SEQ ID NO 129: Bgenefor: 5'-CTATTGCTAGATTGCCAATCAG-3'

SEQ ID NO 130 Bgenerev:5'-ATGGAAGCTTCTCAAG-3'

30 Die genomische DNA wurde aus Lycopersicon esculentum wie beschrieben (Galbiati M et al. Funct. Integr. Genomics 2000, 20 1:25-34) isoliert.

Die PCR Amplifikation wurde wie folgt durchgeführt:

35 80ng genomische DNA

1x Expand Long Template PCR Puffer

2,5 mM MgCl₂

je 350 µM dATP, dCTP, dGTP, dTTP

je 300 nM eines jeden Primers

40 2,5 Units Expand Long Template Polymerase

120

in einem Endvolumen von 25 µl

Folgendes Temperaturprogramm wurde verwendet:

- 5 1 Zyklus mit 120 sec bei 94°C
35 Zyklen mit 94°C für 10 sec,
48°C für 30 sec und
68°C für 3 min
1 Zyklus mit 68°C für 10 min

10

Das PCR Produkt wurde mit Agarosegelektrophorese gereinigt und das 1665 bp Fragment durch Gelelution isoliert.

- 15 Der Vektor p76_35ST wird mit der Restriktionsendonuklease SmaI verdaut und ebenfalls über Agarosegelektrophorese aufgereinigt und durch Gelelution gewonnen.

Das gereinigte PCR Produkt wird in den so behandelten Vektor kloniert.
Dieses Konstrukt wird mit pB bezeichnet. Das 1486 bp lange Fragment, welches das Bgene aus Tomate darstellt, wurde sequenziert und ist in seiner Nukleotidsequenz 20 identisch mit dem Datenbankeintrag AF254793 (Seq ID NO. 1).

pB wird mit den Restriktionsendonukleasen Pmel und Sspl verdaut und das 3906bp Fragment enthaltend den Promotor P76, Bgene und den 35ST durch Agarosegelektrophorese gereinigt und durch Gelelution gewonnen

25

MSP108 (Beispiel 7) wird mit der Restriktionsendonuklease Ecl126II verdaut, durch Agarosegelektrophorese gereinigt und durch Gelelution gewonnen

Das gereinigte 3906bp Fragment enthaltend den Promotor P76, Bgene und den 35ST 30 aus pB wird in den so behandelten Vector MSP108 kloniert.

Dieses Konstrukt wird mit pMKP1 bezeichnet.

Beispiel 13:

- 35 Herstellung und Analyse transgener *Lycopersicon esculentum* Pflanzen

Transformation und Regeneration von Tomatenpflanzen erfolgte nach der publizierten Methode von Ling und Mitarbeitern (Plant Cell Reports (1998), 17:843-847). Für die Varietät Microtom wurde mit höherer Kanamycin-Konzentration (100mg/L) selektioniert.

40

- Als Ausgangsexplantat für die Transformation dienten Kotyledonen und Hypokotyle sieben bis zehn Tage alter Keimlinge der Linie Microtom. Für die Keimung wurde das Kulturmedium nach Murashige und Skoog (1962: Murashige and Skoog, 1962, *Physiol. Plant* 15, 473-) mit 2 % Saccharose, pH 6.1 verwendet. Die Keimung fand bei 21°C bei
- 5 wenig Licht (20 bis 100 µE) statt. Nach sieben bis zehn Tagen wurden die Kotyledonen quer geteilt und die Hypokotyle in ca. 5 bis 10 mm lange Abschnitte geschnitten und auf das Medium MSBN (MS, pH 6,1, 3% Saccharose + 1 mg/l BAP, 0,1 mg/l NAA) gelegt, das am Vortag mit suspensionskultivierten Tomatenzellen beschickt wurde. Die Tomatenzellen wurden luftblasenfrei mit steriles Filterpapier abgedeckt. Die Vorkultur
- 10 der Explantate auf dem beschriebenen Medium erfolgte für drei bis fünf Tage. Zellen des Stammes Agrobakterium tumefaciens LBÄ4404 wurden einzeln mit den Plasmiden transformiert. Von den einzelnen mit den Binärvektoren transformierten Agrobakterium-Stämmen wurde jeweils eine Übernachtkultur in YEB Medium mit Kanamycin (20 mg/l) bei 28 Grad Celsius kultiviert und die Zellen zentrifugiert. Das Bakterienpellet wurde mit flüssigem MS Medium (3 % Saccharose, pH 6,1) resuspendiert und auf eine optische Dichte von 0,3 (bei 600 nm) eingestellt. Die vorkultivierten Explantate wurden in die Suspension überführt und für 30 Minuten bei Zimmertemperatur unter leichtem Schütteln inkubiert. Anschließend wurden die Explantate mit steriles Filterpapier getrocknet und für die dreitägige Co-Kultur (21°C) auf ihr Vorkulturmedium zurück gelegt.
- 15
- 20 Nach der Co-kultur wurden die Explantate auf MSZ2 Medium (MS pH 6,1 + 3 % Saccharose, 2 mg/l Zeatin, 100 mg/l Kanamycin, 160 mg/l Timentin) transferiert und für die selektive Regeneration bei 21°C unter Schwach Bedingungen (20 bis 100 µE, Lichtrhythmus 16 h/8 h) aufbewahrt. Aller zwei bis drei Wochen erfolgte der Transfer der
- 25 Explantate bis sich Sprosse bilden. Kleine Sprosse konnten vom Explantat abgetrennt werden und auf MS (pH 6,1 + 3 % Saccharose) 160 mg/l Timentin, 30 mg/l Kanamycin, 0,1 mg/l IAA bewurzelt werden. Bewurzelte Pflanzen wurden ins Gewächshaus überführt.
- 30 Gemäß der oben beschriebenen Transformationsmethode wurden mit folgenden Expressionskonstrukten folgende Linien erhalten:
- Mit MSP105 wurde erhalten: msp105-1, msp105-2, msp105-3
- Mit MSP107 wurde erhalten: msp107-1, msp107-2, msp107-3
- 35 Mit MSP109 wurde erhalten: msp109-1, msp109-2, msp109-3
- Mit MSP111 wurde erhalten: msp111-1, msp111-2, msp111-3

Beispiel 14:

Herstellung transgener Tagetes Pflanzen

Tagetessamen werden sterilisiert und auf Keimungsmedium (MS-Medium; Murashige

5 and Skoog, Physiol. Plant. 15(1962), 473-497) pH 5,8, 2 % Saccharose) aufgelegt. Die Keimung erfolgt in einem Temperatur/Licht/Zeitintervall von 18 bis 28°C/20-200 µE/3 bis 16 Wochen, bevorzugt jedoch bei 21°C, 20 bis 70 mE, für 4 bis 8 Wochen.

Alle Blätter der sich bis dahin entwickelten in vitro Pflanzen werden geerntet und quer

10 zur Mittelrippe geschnitten. Die dadurch entstehenden Blatexplantate mit einer Größe von 10 bis 60 mm² werden im Verlaufe der Präparation in flüssigem MS-Medium bei Raumtemperatur für maximal 2 Stunden aufbewahrt.

Ein beliebiger Agrobakterium tumefaciens Stamm, bevorzugt aber ein supervirulenter

15 Stamm, wie z.B. EHA105 mit einem entsprechenden Binärplasmid, das ein Selektionsmarken (bevorzugt *bar* oder *paf*) sowie ein oder mehrere Trait- oder Reporter-gene tragen kann wird, über Nacht angezogen und für die Co-Kultivierung mit dem Blattmaterial verwendet. Die Anzucht des Bakterienstammes kann wie folgt erfolgen: Eine Einzelkolonie des entsprechenden Stammes wird in YEB (0,1 % Hefeextrakt, 0,5
20 % Rindfleischextrakt, 0,5 % Pepton, 0,5 % Saccharose, 0,5 % Magnesiumsulfat x 7 H₂O) mit 25 mg/l Kanamycin angeimpft und bei 28°C für 16 bis 20 Stunden angezogen. Anschließend wird die Bakteriensuspension durch Zentrifugation bei 6000 g für 10 min geerntet und derart in flüssigem MS Medium resuspendiert, dass eine OD₆₀₀ von ca. 0,1 bis 0,8 entstand. Diese Suspension wird für die Co-Kultivierung mit dem Blattmate-
25 rial verwendet.

Unmittelbar vor der Co-Kultivierung wird das MS-Medium, in dem die Blätter aufbewahrt worden sind, durch die Bakteriensuspension ersetzt. Die Inkubation der Blättchen in der Agrobakteriensuspension erfolgte für 30 min unter leichtem Schütteln bei

30 Raumtemperatur. Anschließend werden die infizierten Explantate auf ein mit Agar (z.B. 0,8 % Plant Agar (Duchefa, NL) verfestigtes MS-Medium mit Wachstumsregulatoren, wie beispielsweise 3 mg/l Benzylaminopurin (BAP) sowie 1 mg/l Indolylessigsäure (IAA) aufgelegt. Die Orientierung der Blätter auf dem Medium ist bedeutungslos. Die Kultivierung der Explantate findet für 1 bis 8 Tage, bevorzugt aber für 6 Tage statt, da-
35 bei können folgende Bedingungen angewendet werden: Lichtintensität: 30 bis 80 µMol/m² x sec, Temperatur: 22 bis 24°C, hell/dunkel Wechsel von 16/8 Stunden. An-
schließend werden die co-kultivierten Explantate auf frisches MS-Medium, bevorzugt mit den gleichen Wachstumsregulatoren übertragen, wobei dieses zweite Medium zu-
sätzlich ein Antibiotikum zur Unterdrückung des Bakterienwachstums enthält. Timentin
40 in einer Konzentration von 200 bis 500 mg/l ist für diesen Zweck sehr geeignet. Als

zweite selektive Komponente wird eine für die Selektion des Transformationserfolges eingesetzt. Phosphinothricin in einer Konzentration von 1 bis 5 mg/l selektiert sehr effizient, aber auch andere selektive Komponenten gemäß des zu verwendenden Verfahrens sind denkbar.

5

Nach jeweils ein bis drei Wochen erfolgt der Transfer der Explantate auf frisches Medium bis sich Sprossknospen und kleine Sprosse entwickeln, die dann auf das gleiche Basalmedium einschließlich Timentin und PPT oder alternative Komponenten mit Wachstumsregulatoren, nämlich z.B. 0,5 mg/l Indolylbuttersäure (IBA) und 0,5 mg/l Gibberillinsäure GA₃, zur Bewurzelung übertragen werden. Bewurzelte Sprosse können ins Gewächshaus überführt werden.

Zusätzlich zu der beschriebenen Methode sind folgende vorteilhafte Modifikationen möglich:

15

- Bevor die Explantate mit den Bakterien infiziert werden, können sie für 1 bis 12 Tage, bevorzugt 3 bis 4, auf das oben beschriebene Medium für die Co-Kultur vorinkubiert werden. Anschließend erfolgt die Infektion, Co-Kultur und selektive Regeneration wie oben beschrieben.

20

- Der pH Wert für die Regeneration (normalerweise 5,8) kann auf pH 5,2 gesenkt werden. Dadurch wird die Kontrolle des Agrobakterienwachstums verbessert.

25

- Die Zugabe von AgNO₃ (3 bis 10 mg/l) zum Regenerationsmedium verbessert den Zustand der Kultur einschließlich der Regeneration selbst.

- Komponenten, die die Phenolbildung reduzieren und dem Fachmann bekannt sind, wie z.B. Zitronensäure, Ascorbinsäure, PVP u.v.a.m., wirken sich positiv auf die Kultur aus.

30

- Für das gesamte Verfahren kann auch flüssiges Kulturmedium Verwendung finden. Die Kultur kann auch auf handelsüblichen Trägern, die auf dem flüssigen Medium positioniert werden inkubiert werden.

35

Gemäß der oben beschriebenen Transformationsmethode wurden mit folgenden Expressionskonstrukten folgende Linien erhalten:

Mit MSP106 wurde erhalten: msp106-1, msp106-2, msp106-3

Mit MSP108 wurde erhalten: msp108-1, msp108-2, msp108-3

40

Mit MSP110 wurde erhalten: msp110-1, msp110-2, msp110-3

Mit MSP112 wurde erhalten: msp112-1, msp112-2, msp112-3

Mit pCSEbhyd wurde erhalten: csebhyd-1, csebhyd-2, csebhyd-3.

Mit pMKP1 wurde erhalten: mkp1-1, mkp1-2, mkp1-3.

5

Beispiel 15: Enzymatische Lipase-katalysierte Hydrolyse von Carotinoidestern aus Pflanzenmaterial und Identifizierung der Carotinoide

10 Allgemeine Arbeitsvorschrift

- a) Gemörseretes Pflanzenmaterial (z.B. Petalenmaterial) (30-100 mg Frischgewicht) wird mit 100% Aceton (dreimal 500 μ l; jeweils etwa 15 Minuten schütteln) extrahiert. Das Lösungsmittel wird evaporiert. Carotinoide werden anschließend in 495 μ l Aceton aufgenommen, 4,95 ml Kaliumphosphatpuffer (100 mM, pH7.4) zugegeben und gut gemischt. Danach erfolgt die Zugabe von ca. 17 mg Bile-Salze (Sigma) und 149 μ l einer NaCl/CaCl₂-Lösung (3M NaCl und 75 mM CaCl₂). Die Suspension wird für 30 Minuten bei 37°C inkubiert. Für die enzymatische Hydrolyse der Carotinoidester wird 595 μ l einer Lipaselösung (50 mg/ml Lipase Typ7 von *Candida rugosa* (Sigma)) zugegeben und unter Schütteln bei 37C inkubiert. Nach etwa 21 Stunden erfolgte nochmals eine Zugabe von 595 μ l Lipase mit erneuter Inkubation von mindestens 5 Stunden bei 37°C. Anschließend werden etwa ca. 700 mg Na₂SO₄ in der Lösung gelöst. Nach Zugabe von 1800 μ l Petrolether werden die Carotinoide durch kräftig Mischen in die organische Phase extrahiert. Dieses Ausschütteln wird solange wiederholt, bis die organische Phase farblos bleibt. Die Petroletherfraktionen werden vereinigt und der Petrolether evaporiert. Freie Carotinoide werden in 100-120 μ l Aceton aufgenommen. Mittels HPLC und C30-reverse phase-Säule können freie Carotinoide aufgrund von Retentionszeit und UV-VIS-Spektren identifiziert werden.
- 30 Die verwendeten Bile-Salze oder Gallensäuresalze sind 1:1 Mischungen von Cholat und Desoxycholat.
- b) Arbeitsvorschrift für Aufarbeitung, wenn nur geringe Mengen an Carotinoidestern im Pflanzenmaterial vorhanden sind
- 35 Alternativ kann die Hydrolyse der Carotinoidester durch Lipase aus *Candida rugosa* nach Trennung mittels Dünnschichtchromatographie erreicht werden. Dazu werden 50-100mg Pflanzenmaterial dreimal mit etwa 750 μ l Aceton extrahiert. Der Lösungsmittextrakt wird im Vakuum einrotiert (erhöhte Temperaturen von 40-50°C sind tolerabel). Danach erfolgt Zugabe von 300 μ l Petrolether:Aceton (Verhältnis 5:1) und gute

Durchmischung. Schwebstoffe werden durch Zentrifugation (1-2 Minuten) sedimentiert. Die obere Phase wird in ein neues Reaktionsgefäß überführt. Das verbleibende Rest wird erneut mit 200µl Petrolether:Aceton (Verhältnis 5:1) extrahiert und Schwebstoffe werden durch Zentrifugation entfernt. Die beiden Extrakte werden zusammengeführt
5 (Volumen 500µl) und die Lösungsmittel evaporiert. Der Rückstand wird in 30µl Petrolether:Aceton (Verhältnis 5:1) resuspendiert und auf eine Dünnschichtplatte (Silica-Gel 60, Merck) aufgetragen. Falls mehr als eine Auftragung für präparativ-analytische Zwecke erforderlich ist, sollten mehrere Aliquots mit jeweils 50-100 mg Frischgewicht in der beschriebenen Weise für die dünnschichtchromatographische Trennung aufbereitet
10 werden.

Die Dünnschichtplatte wird in Petrolether:Aceton (Verhältnis 5:1) entwickelt. Carotinoidbanden können visuell aufgrund ihrer Farbe identifiziert werden. Einzelne Carotinoidbanden werden ausgekratzt und können für präparativ-analytische Zwecke gepoolt
15 werden. Mit Aceton werden die Carotinoide vom Silica-Material eluiert; das Lösungsmittel wird im Vakuum evaporiert. Zur Hydrolyse der Carotinoidester wird der Rückstand in 495µl Aceton gelöst, 17mg Bile-Salze (Sigma), 4,95ml 0.1M Kaliumphosphatpuffer (pH 7,4) und 149µl (3M NaCl, 75mM CaCl₂) zugegeben. Nach guter Durchmischung wird 30min bei 37°C äquilibriert. Danach erfolgt die Zugabe von 595µl Lipase
20 von Candida rugosa (Sigma, Stammlösung von 50mg/ml in 5mM CaCl₂). Über Nacht erfolgt die Inkubation mit Lipase unter Schütteln bei 37°C. Nach etwa 21 Stunden wird nochmals die gleiche Menge an Lipase zugegeben; für mindestens 5 Stunden wird nochmals bei 37°C unter Schütteln inkubiert. Dann erfolgt die Zugabe von 700mg
25 Na₂SO₄ (wasserfrei); mit 1800µl Petrolether wird für ca. 1 Minute ausgeschüttelt und die Mischung bei 3500 Umdrehungen/Minute für 5 Minuten zentrifugiert. Die obere Phase wird in ein neues Reaktionsgefäß überführt und das Ausschütteln so lange wiederholt, bis die obere Phase farblos ist. Die vereinigte Petrolether-Phase wird im Vakuum eingeengt (Temperaturen von 40-50°C sind möglich). Der Rückstand wird in 120µl
30 Aceton, eventuell mittels Ultraschall, gelöst. Die gelösten Carotinoide können mittels HPLC unter Verwendung einer C30-Säule getrennt und anhand von Referenzsubstanzen quantifiziert werden.

Beispiel 16: HPLC-Analyse freier Carotinoide

35 Die Analyse der nach der Arbeitsvorschriften in Beispiel 15 erhaltenen Proben erfolgt unter folgenden Bedingungen:

Folgende HPLC-Bedingungen wurden eingestellt.

Trennsäule: Prontosil C30-Säule, 250 x 4,6 mm, (Bischoff, Leonberg, Germany)

40 Flussrate: 1.0 ml/min

Eluenten: Laufmittel A - 100% Methanol
Laufmittel B - 80% Methanol, 0.2% Ammoniumacetat
Laufmittel C - 100% t-Butyl-methylether

Detektion: 300-530 nm

5

Gradientenprofil:

Zeit	Flussrate	% Laufmittel A	% Laufmittel B	% Laufmittel C
1.00	1.0	95.0	5.0	0
12.00	1.0	95.0	5.0	0
12.10	1.0	80.0	5.0	15.0
22.00	1.0	76.0	5.0	19.0
22.10	1.0	66.5	5.0	28.5
38.00	1.0	15.0	5.0	80.0
45.00	1.0	95.0	5.0	0
46.0	1.0	95.0	5.0	0

Einige typische Retentionszeiten für erfindungsgemäß gebildete Carotinoide sind z.B.:

Violaxanthin 11,7 min, Astaxanthin 17,7 min, Adonixanthin 19 min, Adonirubin 19,9

10 min, Zeaxanthin 21 min.

Patenansprüche

1. Verfahren zur Herstellung von Ketocarotinoiden durch Kultivierung von genetisch veränderten, nicht-humanen Organismen, die im Vergleich zum Wildtyp eine veränderte Ketolase-Aktivität und eine veränderte β-Cyclase-Aktivität aufweisen, und die veränderte β-Cyclase-Aktivität durch eine β-Cyclase verursacht wird, enthaltend die Aminosäuresequenz SEQ. ID. NO. 2 oder eine von dieser Sequenz durch Substitution, Insertion oder Deletion von Aminosäuren abgeleitete Sequenz, die eine Identität von mindestens 70 % auf Aminosäureebene mit der Sequenz SEQ. ID. NO. 2 aufweist.
2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass man nicht-humane Organismen verwendet, die als Wildtyp bereits eine Ketolase-Aktivität aufweisen, und die genetische Veränderung eine Erhöhung der Ketolase-Aktivität im Vergleich zum Wildtyp bewirkt.
3. Verfahren nach Anspruch 2, dadurch gekennzeichnet, dass man zur Erhöhung der Ketolase-Aktivität die Genexpression einer Nukleinsäure, kodierend eine Ketolase, gegenüber dem Wildtyp erhöht.
4. Verfahren nach Anspruch 3, dadurch gekennzeichnet, dass man zur Erhöhung der Genexpression Nukleinsäuren in den Organismus einbringt, die Ketolasen kodieren.
5. Verfahren nach Anspruch 4, dadurch gekennzeichnet, dass man als Nukleinsäure, kodierend eine Ketolase, Nukleinsäuren einbringt, die eine Ketolase kodieren, enthaltend die Aminosäuresequenz SEQ ID NO: 4 oder eine von dieser Sequenz durch Substitution, Insertion oder Deletion von Aminosäuren abgeleitete Sequenz, die eine Identität von mindestens 70 % auf Aminosäureebene mit der Sequenz SEQ ID NO: 4 aufweist.
6. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass man nicht-humane Organismen verwendet, die als Wildtyp keine Ketolase-Aktivität aufweisen und die genetische Veränderung eine Ketolase-Aktivität im Vergleich zum Wildtyp verur-

sacht.

7. Verfahren nach Anspruch 6, dadurch gekennzeichnet, dass man genetisch veränderte Organismen verwendet, die transgen eine Ketolase exprimieren.

5

8. Verfahren nach Anspruch 6 oder 7, dadurch gekennzeichnet, dass man zur Verursachung der Genexpression Nukleinsäuren in die Organismen einbringt, die Ketolasen kodieren.

- 10 9. Verfahren nach Anspruch 8, dadurch gekennzeichnet, dass man Nukleinsäuren einbringt, kodierend eine Ketolase, enthaltend die Aminosäuresequenz SEQ. ID. NO. 4 oder eine von dieser Sequenz durch Substitution, Insertion oder Deletion von Aminosäuren abgeleitete Sequenz, die eine Identität von mindestens 70 % auf Aminosäureebene mit der Sequenz SEQ. ID. NO. 4 aufweist.

15

10. Verfahren nach Anspruch 5 oder 9, dadurch gekennzeichnet, dass man Nukleinsäuren, enthaltend die Sequenz SEQ. ID. NO. 3 einbringt.

11. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 10, dadurch gekennzeichnet, dass man 20 Organismen verwendet, die als Wildtyp bereits eine β-Cyclase-Aktivität aufweisen, und die genetische Veränderung eine Erhöhung der β-Cyclase-Aktivität im Vergleich zum Wildtyp bewirkt.

12. Verfahren nach Anspruch 11, dadurch gekennzeichnet, dass man zur Erhöhung 25 der β-Cyclase-Aktivität die Genexpression einer Nukleinsäure, kodierend eine β-Cyclase, enthaltend die Aminosäuresequenz SEQ. ID. NO. 2 oder eine von dieser Sequenz durch Substitution, Insertion oder Deletion von Aminosäuren abgeleitete Sequenz, die eine Identität von mindestens 70 % auf Aminosäureebene mit der Sequenz SEQ. ID. NO. 2 aufweist, gegenüber dem Wildtyp erhöht.

30

13. Verfahren nach Anspruch 12, dadurch gekennzeichnet, dass man zur Erhöhung der Genexpression Nukleinsäuren in den Organismus einbringt, die β-Cyclasen kodieren, enthaltend die Aminosäuresequenz SEQ. ID. NO. 2 oder eine von dieser Sequenz durch Substitution, Insertion oder Deletion von Aminosäuren abgeleitete Sequenz, die eine Identität von mindestens 70 % auf Aminosäureebene mit der

35

Sequenz SEQ. ID. NO. 2 aufweist.

14. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 10, dadurch gekennzeichnet, dass man Organismen verwendet, die als Wildtyp keine β-Cyclase-Aktivität aufweisen und
5 die genetische Veränderung eine β-Cyclase-Aktivität im Vergleich zum Wildtyp verursacht.
15. Verfahren nach Anspruch 14, dadurch gekennzeichnet, dass man genetisch veränderte Organismen verwendet, die transgen eine β-Cyclase, enthaltend die
10 Aminosäuresequenz SEQ. ID. NO. 2 oder eine von dieser Sequenz durch Substitution, Insertion oder Deletion von Aminosäuren abgeleitete Sequenz, die eine Identität von mindestens 70 % auf Aminosäureebene mit der Sequenz SEQ. ID. NO. 2 aufweist, exprimieren.
- 15 16. Verfahren nach Anspruch 14 oder 15, dadurch gekennzeichnet, dass man zur Verursachung der Genexpression Nukleinsäuren in die Organismen einbringt, die β-Cyclasen kodieren, enthaltend die Aminosäuresequenz SEQ. ID. NO. 2 oder eine von dieser Sequenz durch Substitution, Insertion oder Deletion von Aminosäuren abgeleitete Sequenz, die eine Identität von mindestens 70 % auf Aminosäureebene mit der Sequenz SEQ. ID. NO. 2 aufweist.
20
17. Verfahren nach Anspruch 13 oder 16, dadurch gekennzeichnet, dass man Nukleinsäuren, enthaltend die Sequenz SEQ. ID. NO. 1 einbringt.
- 25 18. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 17, dadurch gekennzeichnet, dass die nicht-humanen Organismen zusätzlich gegenüber dem Wildtyp eine erhöhte oder verursachte Hydroxylase-Aktivität aufweisen.
19. Verfahren nach Anspruch 18, dadurch gekennzeichnet, dass man zur zusätzlichen
30 Erhöhung oder Verursachung der Hydroxylase-Aktivität, die Genexpression einer Nukleinsäure kodierend eine Hydroxylase gegenüber dem Wildtyp erhöht oder verursacht.
- 35 20. Verfahren nach Anspruch 19, dadurch gekennzeichnet, dass man zur Erhöhung oder Verursachung der Genexpression eine Nukleinsäure kodierend eine Hydroxy-

lase in den Organismus einbringt.

21. Verfahren nach Anspruch 20, dadurch gekennzeichnet, dass man als Nukleinsäure, kodierend eine Hydroxylase, Nukleinsäuren einbringt, die eine Hydroxylase kodieren, enthaltend die Aminosäuresequenz SEQ ID NO: 6 oder eine von dieser Sequenz durch Substitution, Insertion oder Deletion von Aminosäuren abgeleitete Sequenz, die eine Identität von mindestens 70 % auf Aminosäureebene mit der Sequenz SEQ ID NO: 6 aufweist.
5
- 10 22. Verfahren nach Anspruch 21, dadurch gekennzeichnet, dass man Nukleinsäuren, enthaltend die Sequenz SEQ ID NO: 5 einbringt.
- 15 23. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 22, dadurch gekennzeichnet, dass die Organismen zusätzlich gegenüber dem Wildtyp eine erhöhte oder verursachte Aktivität mindestens einer der Aktivitäten, ausgewählt aus der Gruppe HMG-CoA-Reduktase-Aktivität, (E)-4-Hydroxy-3-Methylbut-2-enyl-Diphosphat-Reduktase-Aktivität, 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Synthase-Aktivität, 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Reduktoisomerase-Aktivität, Isopentenyl-Diphosphat- Δ -Isomerase-Aktivität, Geranyl-Diphosphat-Synthase-Aktivität, Farnesyl-Diphosphat-Synthase-Aktivität, Geranyl-geranyl-Diphosphat-Synthase-Aktivität, Phytoen-Synthase-Aktivität, Phytoen-Desaturase-Aktivität, Zeta-Carotin-Desaturase-Aktivität, crtISO-Aktivität, FtsZ-Aktivität und MinD-Aktivität aufweisen.
20
- 25 24. Verfahren nach Anspruch 23, dadurch gekennzeichnet, dass man zur zusätzlichen Erhöhung oder Verursachung mindestens einer der Aktivitäten, die Genexpression mindestens einer Nukleinsäure ausgewählt aus der Gruppe, Nukleinsäuren kodierend eine HMG-CoA-Reduktase, Nukleinsäuren kodierend eine (E)-4-Hydroxy-3-Methylbut-2-enyl-Diphosphat-Reduktase, Nukleinsäuren kodierend eine 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Synthase, Nukleinsäuren kodierend eine 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Reduktoisomerase, Nukleinsäuren kodierend eine Isopentenyl-Diphosphat- Δ -Isomerase, Nukleinsäuren kodierend eine Geranyl-Diphosphat-Synthase, Nukleinsäuren kodierend eine Farnesyl-Diphosphat-Synthase, Nukleinsäuren kodierend eine Geranyl-Geranyl-Diphosphat-Synthase, Nukleinsäuren kodierend eine Phytoen-Synthase, Nukleinsäuren kodierend eine Phytoen-Desaturase, Nukleinsäuren kodierend eine Zeta-Carotin-Desaturase, Nukleinsäuren
30
35

ren kodierend ein crtISO Protein, Nukleinsäuren kodierend ein FtsZ Protein und Nukleinsäuren kodierend ein MinD Protein gegenüber dem Wildtyp erhöht.

25. Verfahren nach Anspruch 24, dadurch gekennzeichnet, dass man zur Erhöhung
5 oder Verursachung der Genexpression mindestens einer der Nukleinsäuren, min-
destens eine Nukleinsäure ausgewählt aus der Gruppe, Nukleinsäuren kodierend
eine HMG-CoA-Reduktase, Nukleinsäuren kodierend eine (E)-4-Hydroxy-3-
Methylbut-2-enyl-Diphosphat-Reduktase, Nukleinsäuren kodierend eine 1-Deoxy-
D-Xylose-5-Phosphat-Synthase, Nukleinsäuren kodierend eine 1-Deoxy-D-Xylose-
10 5-Phosphat-Reduktoisomerase, Nukleinsäuren kodierend eine Isopentenyl-
Diphosphat-Δ-Isomerase, Nukleinsäuren kodierend eine Geranyl-Diphosphat-
Synthase, Nukleinsäuren kodierend eine Farnesyl-Diphosphat-Synthase, Nuklein-
säuren kodierend eine Geranyl-Geranyl-Diphosphat-Synthase, Nukleinsäuren ko-
dierend eine Phytoen-Synthase, Nukleinsäuren kodierend eine Phytoen-
15 Desaturase, Nukleinsäuren kodierend eine Zeta-Carotin-Desaturase, Nukleinsäu-
ren kodierend ein crtISO Protein, Nukleinsäuren kodierend ein FtsZ Protein und
Nukleinsäuren kodierend ein MinD Protein in die nicht-humanen Organismen ein-
bringt.
- 20 26. Verfahren nach Anspruch 25, dadurch gekennzeichnet, dass man als Nukleinsäu-
re kodierend eine HMG-CoA-Reduktase, Nukleinsäuren einbringt die eine HMG-
CoA-Reduktase kodieren, enthaltend die Aminosäuresequenz SEQ ID NO: 8 oder
eine von dieser Sequenz durch Substitution, Insertion oder Deletion von Amino-
säuren abgeleitete Sequenz, die eine Identität von mindestens 20 % auf Amino-
25 säureebene mit der Sequenz SEQ ID NO: 8 aufweist.
27. Verfahren nach Anspruch 26, dadurch gekennzeichnet, dass man Nukleinsäuren,
enthaltend die Sequenz SEQ ID NO: 7 einbringt.
- 30 28. Verfahren nach Anspruch 25, dadurch gekennzeichnet, dass man als Nukleinsäu-
re kodierend eine (E)-4-Hydroxy-3-Methylbut-
2-enyl-Diphosphat-Reduktase, Nukleinsäuren einbringt die eine (E)-4-Hydroxy-3-
Methylbut-2-enyl-Diphosphat-Reduktase kodieren, enthaltend die Aminosäurese-
quenz SEQ ID NO: 10 oder eine von dieser Sequenz durch Substitution, Insertion
35 oder Deletion von Aminosäuren abgeleitete Sequenz, die eine Identität von min-

destens 20 % auf Aminosäureebene mit der Sequenz SEQ ID NO: 10 aufweist.

29. Verfahren nach Anspruch 28, dadurch gekennzeichnet, dass man Nukleinsäuren, enthaltend die Sequenz SEQ ID NO: 9 einbringt.

5

30. Verfahren nach Anspruch 25, dadurch gekennzeichnet, dass man als Nukleinsäure kodierend eine 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Synthase, Nukleinsäuren einbringt die eine 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Synthase kodieren, enthaltend die Aminosäuresequenz SEQ ID NO: 12 oder eine von dieser Sequenz durch Substitution, Insertion oder Deletion von Aminosäuren abgeleitete Sequenz, die eine Identität von mindestens 20 % auf Aminosäureebene mit der Sequenz SEQ ID NO: 12 aufweist.

10

31. Verfahren nach Anspruch 30, dadurch gekennzeichnet, dass man Nukleinsäuren, enthaltend die Sequenz SEQ ID NO: 11 einbringt.

15

32. Verfahren nach Anspruch 25, dadurch gekennzeichnet, dass man als Nukleinsäure kodierend eine 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Reduktoisomerase, Nukleinsäuren einbringt die eine 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Reduktoisomerase kodieren, enthaltend die Aminosäuresequenz SEQ ID NO: 14 oder eine von dieser Sequenz durch Substitution, Insertion oder Deletion von Aminosäuren abgeleitete Sequenz, die eine Identität von mindestens 20 % auf Aminosäureebene mit der Sequenz SEQ ID NO: 14 aufweist.

20

25 33. Verfahren nach Anspruch 32, dadurch gekennzeichnet, dass man Nukleinsäuren, enthaltend die Sequenz SEQ ID NO: 13 einbringt.

30

34. Verfahren nach Anspruch 25, dadurch gekennzeichnet, dass man als Nukleinsäure kodierend eine Isopentenyl-Diphosphat- Δ -Isomerase, Nukleinsäuren einbringt die eine Isopentenyl-Diphosphat- Δ -Isomerase kodieren, enthaltend die Aminosäuresequenz SEQ ID NO: 16 oder eine von dieser Sequenz durch Substitution, Insertion oder Deletion von Aminosäuren abgeleitete Sequenz, die eine Identität von mindestens 20 % auf Aminosäureebene mit der Sequenz SEQ ID NO: 16 aufweist.

35. Verfahren nach Anspruch 34, dadurch gekennzeichnet, dass man Nukleinsäuren, enthaltend die Sequenz SEQ ID NO: 15 einbringt.
36. Verfahren nach Anspruch 25, dadurch gekennzeichnet, dass man als Nukleinsäure 5 kodierend eine Geranyl-Diphosphat-Synthase, Nukleinsäuren einbringt die eine Geranyl-Diphosphat-Synthase kodieren, enthaltend die Aminosäuresequenz SEQ ID NO: 18 oder eine von dieser Sequenz durch Substitution, Insertion oder Deletion von Aminosäuren abgeleitete Sequenz, die eine Identität von mindestens 20 % auf Aminosäureebene mit der Sequenz SEQ ID NO: 18 aufweist.
10
37. Verfahren nach Anspruch 36, dadurch gekennzeichnet, dass man Nukleinsäuren, enthaltend die Sequenz SEQ ID NO: 17 einbringt.
38. Verfahren nach Anspruch 25, dadurch gekennzeichnet, dass man als Nukleinsäure 15 kodierend eine Farnesyl-Diphosphat-Synthase, Nukleinsäuren einbringt die eine Farnesyl-Diphosphat-Synthase kodieren, enthaltend die Aminosäuresequenz SEQ ID NO: 20 oder eine von dieser Sequenz durch Substitution, Insertion oder Deletion von Aminosäuren abgeleitete Sequenz, die eine Identität von mindestens 20 % auf Aminosäureebene mit der Sequenz SEQ ID NO: 20 aufweist.
20
39. Verfahren nach Anspruch 38, dadurch gekennzeichnet, dass man Nukleinsäuren, enthaltend die Sequenz SEQ ID NO: 19 einbringt.
40. Verfahren nach Anspruch 25, dadurch gekennzeichnet, dass man als Nukleinsäure 25 kodierend eine Geranyl-Geranyl-Diphosphat-Synthase, Nukleinsäuren einbringt die eine Geranyl-Geranyl-Diphosphat-Synthase kodieren; enthaltend die Aminosäuresequenz SEQ ID NO: 22 oder eine von dieser Sequenz durch Substitution, Insertion oder Deletion von Aminosäuren abgeleitete Sequenz, die eine Identität von mindestens 20 % auf Aminosäureebene mit der Sequenz SEQ ID NO: 22 aufweist.
30
41. Verfahren nach Anspruch 40, dadurch gekennzeichnet, dass man Nukleinsäuren, enthaltend die Sequenz SEQ ID NO: 21 einbringt.
42. Verfahren nach Anspruch 25, dadurch gekennzeichnet, dass man als Nukleinsäure 35 kodierend eine Phytoen-Synthase, Nukleinsäuren einbringt die eine Phytoen-

134

Synthase kodieren, enthaltend die Aminosäuresequenz SEQ ID NO: 24 oder eine von dieser Sequenz durch Substitution, Insertion oder Deletion von Aminosäuren abgeleitete Sequenz, die eine Identität von mindestens 20 % auf Aminosäureebene mit der Sequenz SEQ ID NO: 24 aufweist.

5

43. Verfahren nach Anspruch 42, dadurch gekennzeichnet, dass man Nukleinsäuren, enthaltend die Sequenz SEQ ID NO: 23 einbringt.
44. Verfahren nach Anspruch 25, dadurch gekennzeichnet, dass man als Nukleinsäure 10 kodierend eine Phytoen-Desaturase, Nukleinsäuren einbringt die eine Phytoen-Desaturase kodieren, enthaltend die Aminosäuresequenz SEQ ID NO: 26 oder eine von dieser Sequenz durch Substitution, Insertion oder Deletion von Aminosäuren abgeleitete Sequenz, die eine Identität von mindestens 20 % auf Aminosäureebene mit der Sequenz SEQ ID NO: 26 aufweist.
45. Verfahren nach Anspruch 44, dadurch gekennzeichnet, dass man Nukleinsäuren, enthaltend die Sequenz SEQ ID NO: 25 einbringt.
46. Verfahren nach Anspruch 25, dadurch gekennzeichnet, dass man als Nukleinsäure 20 kodierend eine Zeta-Carotin-Desaturase, Nukleinsäuren einbringt die eine Zeta-Carotin-Desaturase kodieren, enthaltend die Aminosäuresequenz SEQ ID NO: 28 oder eine von dieser Sequenz durch Substitution, Insertion oder Deletion von Aminosäuren abgeleitete Sequenz, die eine Identität von mindestens 20 % auf Aminosäureebene mit der Sequenz SEQ ID NO: 28 aufweist.
47. Verfahren nach Anspruch 46, dadurch gekennzeichnet, dass man Nukleinsäuren, enthaltend die Sequenz SEQ ID NO: 27 einbringt.
48. Verfahren nach Anspruch 25, dadurch gekennzeichnet, dass man als Nukleinsäure 30 kodierend ein crtISO Protein, Nukleinsäuren einbringt die ein crtISO Protein kodieren, enthaltend die Aminosäuresequenz SEQ ID NO: 30 oder eine von dieser Sequenz durch Substitution, Insertion oder Deletion von Aminosäuren abgeleitete Sequenz, die eine Identität von mindestens 20 % auf Aminosäureebene mit der Sequenz SEQ ID NO: 30 aufweist.

35

49. Verfahren nach Anspruch 48, dadurch gekennzeichnet, dass man Nukleinsäuren, enthaltend die Sequenz SEQ ID NO: 29 einbringt.
50. Verfahren nach Anspruch 25, dadurch gekennzeichnet, dass man als Nukleinsäure kodierend ein FtsZ Protein, Nukleinsäuren einbringt die ein FtsZ Protein kodieren, enthaltend die Aminosäuresequenz SEQ ID NO: 32 oder eine von dieser Sequenz durch Substitution, Insertion oder Deletion von Aminosäuren abgeleitete Sequenz, die eine Identität von mindestens 20 % auf Aminosäureebene mit der Sequenz SEQ ID NO: 32 aufweist.
10
51. Verfahren nach Anspruch 50, dadurch gekennzeichnet, dass man Nukleinsäuren, enthaltend die Sequenz SEQ ID NO: 31 einbringt.
52. Verfahren nach Anspruch 25, dadurch gekennzeichnet, dass man als Nukleinsäure kodierend ein MinD Protein, Nukleinsäuren einbringt die ein MinD Protein kodieren, enthaltend die Aminosäuresequenz SEQ ID NO: 34 oder eine von dieser Sequenz durch Substitution, Insertion oder Deletion von Aminosäuren abgeleitete Sequenz, die eine Identität von mindestens 20 % auf Aminosäureebene mit der Sequenz SEQ ID NO: 34 aufweist.
15
53. Verfahren nach Anspruch 52, dadurch gekennzeichnet, dass man Nukleinsäuren, enthaltend die Sequenz SEQ ID NO: 33 einbringt.
20
54. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 53, dadurch gekennzeichnet, dass man nach dem Kultivieren die genetisch veränderten Organismen erntet und anschließend die Ketocarotinoide aus den Organismen isoliert.
25
55. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 54, dadurch gekennzeichnet, dass man als Organismus einen Organismus verwendet, der als Ausgangsorganismus natürlicherweise oder durch genetische Komplementation oder Umregulierung von Stoffwechselwegen in der Lage ist, Carotinoide herzustellen.
30
56. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 55, dadurch gekennzeichnet, dass man als Organismen Mikroorganismen oder Pflanzen verwendet.
35

57. Verfahren nach Anspruch 56, dadurch gekennzeichnet, dass man als Mikroorganismen Bakterien, Hefen, Algen oder Pilze verwendet.
58. Verfahren nach Anspruch 57, dadurch gekennzeichnet, dass die Mikroorganismen ausgewählt sind aus der Gruppe *Escherichia*, *Erwinia*, *Agrobacterium*, *Flavobacterium*, *Alcaligenes*, *Paracoccus*, *Nostoc*, Cyanobakterien der Gattung *Synechocystis*, *Candida*, *Saccharomyces*, *Hansenula*, *Phaffia*, *Pichia*, *Aspergillus*, *Trichoderma*, *Ashbya*, *Neurospora*, *Blakeslea*, *Phycomyces*, *Fusarium*, *Haematococcus*, *Phaedactylum tricomatum*, *Volvox* oder *Dunaliella*.
- 10 59. Verfahren nach Anspruch 56, dadurch gekennzeichnet, dass man als Organismen Pflanzen verwendet.
- 15 60. Verfahren nach Anspruch 59, dadurch gekennzeichnet, dass man als Pflanze eine Pflanze, ausgewählt aus den Familien Amaranthaceae, Amaryllidaceae, Apocynaceae, Asteraceae, Balsaminaceae, Begoniaceae, Berberidaceae, Brassicaceae, Cannabaceae, Caprifoliaceae, Caryophyllaceae, Chenopodiaceae, Compositae, Cucurbitaceae, Cruciferae, Euphorbiaceae, Fabaceae, Gentianaceae, Geraniaceae, Gramineae, Illiaceae, Labiate, Lamiaceae, Leguminosae, Liliaceae, Linaceae, Lobeliaceae, Malvaceae, Oleaceae, Orchidaceae, Papaveraceae, Plumbaginaceae, Poaceae, Polemoniaceae, Primulaceae, Ranunculaceae, Rosaceae, Rubiaceae, Scrophulariaceae, Solanaceae, Tropaeolaceae, Umbelliferae, Verbenaceae, Vitaceae oder Violaceae verwendet.
- 20 25 61. Verfahren nach Anspruch 60, dadurch gekennzeichnet, dass man als Pflanze eine Pflanze, ausgewählt aus den Pflanzengattungen Marigold, *Tagetes erecta*, *T. patula*, *Acacia*, *Aconitum*, *Adonis*, *Arnica*, *Aquilegia*, *Aster*, *Astragalus*, *Bignonia*, *Calendula*, *Caltha*, *Campanula*, *Canna*, *Centaurea*, *Cheiranthus*, *Chrysanthemum*, *Citrus*, *Crepis*, *Crocus*, *Curcurbita*, *Cytisus*, *Delonia*, *Delphinium*, *Dianthus*, *Dimorphotheca*, *Doronicum*, *Eschscholtzia*, *Forsythia*, *Fremontia*, *Gazania*, *Gel-semium*, *Genista*, *Gentiana*, *Geranium*, *Gerbera*, *Geum*, *Grevillea*, *Helenium*, *Helianthus*, *Hepatica*, *Heracleum*, *Hibiscus*, *Heliopsis*, *Hypericum*, *Hypochoeris*, *Impatiens*, *Iris*, *Jacaranda*, *Kerria*, *Laburnum*, *Lathyrus*, *Leontodon*, *Lilium*, *Linum*, *Lotus*, *Lycopersicon*, *Lysimachia*, *Maratia*, *Medicago*, *Mimulus*, *Narcissus*, *Oenothera*, *Osmanthus*, *Petunia*, *Photinia*, *Physalis*, *Phyteuma*, *Potentilla*, *Pyracantha*, *Ra-*

nunculus, Rhododendron, Rosa, Rudbeckia, Senecio, Silene, Silphium, Sinapis, Sorbus, Spartium, Tecoma, Torenia, Tragopogon, Trollius, Tropaeolum, Tulipa, Tussilago, Ulex, Viola oder Zinnia verwendet.

- 5 62. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 61, dadurch gekennzeichnet, dass die Ketocarotinoide ausgewählt sind aus der Gruppe Astaxanthin, Canthaxanthin, E-chinenon, 3-Hydroxyechinenon, 3'-Hydroxyechinenon, Adonirubin und Adonixanthin.
- 10 63. Genetisch veränderter, nicht-humaner Organismus, wobei die genetische Veränderung die Aktivität einer Ketolase
- A für den Fall, dass der Wildtyporganismus bereits eine Ketolase-Aktivität aufweist, gegenüber dem Wildtyp erhöht und
- 15 B für den Fall, dass der Wildtyporganismus keine Ketolase-Aktivität aufweist, gegenüber dem Wildtyp verursacht,
- und wobei die genetische Veränderung die Aktivität einer β-Cyclase
- 20 C für den Fall, dass der Wildtyporganismus bereits eine β-Cyclase -Aktivität aufweist, gegenüber dem Wildtyp erhöht und
- 25 D für den Fall, dass der Wildtyporganismus keine β-Cyclase –Aktivität aufweist, gegenüber dem Wildtyp verursacht
- und die nach C erhöhte oder nach D verursachte β-Cyclase-Aktivität durch eine β-Cyclase verursacht wird, enthaltend die Aminosäuresequenz SEQ. ID. NO. 2 oder eine von dieser Sequenz durch Substitution, Insertion oder Deletion von Aminosäuren abgeleitete Sequenz, die eine Identität von mindestens 70 % auf Aminosäureebene mit der Sequenz SEQ. ID. NO. 2 aufweist.
64. Genetisch veränderter Organismus nach Anspruch 63, dadurch gekennzeichnet dass er als Ausgangsorganismus natürlicherweise oder durch genetische Kom-

plementierung in der Lage ist, Carotinoide herzustellen.

65. Genetisch veränderter Organismus nach Anspruch 63 oder 64, ausgewählt aus der Gruppe Mikroorganismen oder Pflanzen.

5

66. Genetisch veränderter Mikroorganismus nach Anspruch 65, dadurch gekennzeichnet, dass die Mikroorganismen ausgewählt sind aus der Gruppe Bakterien, Hefen, Algen oder Pilze.

- 10 67. Genetisch veränderter Mikroorganismus nach Anspruch 66, dadurch gekennzeichnet, dass die Mikroorganismen ausgewählt sind aus der Gruppe *Escherichia*, *Erwinia*, *Agrobacterium*, *Flavobacterium*, *Alcaligenes*, *Paracoccus*, *Nostoc*, Cyanobakterien der Gattung *Synechocystis*, *Candida*, *Saccharomyces*, *Hansenula*, *Pichia*, *Aspergillus*, *Trichoderma*, *Ashbya*, *Neurospora*, *Blakeslea*, *Phycomyces*, *Fusarium*, *Haematococcus*, *Phaedactylum tricornatum*, *Volvox* oder *Dunaliella*.

- 15 68. Genetisch veränderte Pflanze nach Anspruch 65, dadurch gekennzeichnet, dass die Pflanzen ausgewählt sind aus den Familien Amaranthaceae, Amaryllidaceae, Apocynaceae, Asteraceae, Balsaminaceae, Begoniaceae, Berberidaceae, Brassicaceae, Cannabaceae, Caprifoliaceae, Caryophyllaceae, Chenopodiaceae, Compositae, Cucurbitaceae, Cruciferae, Euphorbiaceae, Fabaceae, Gentianaceae, Geraniaceae, Gramineae, Illiaceae, Labiate, Lamiaceae, Leguminosae, Liliaceae, Linaceae, Lobeliaceae, Malvaceae, Oleaceae, Orchidaceae, Papaveraceae, Plumbaginaceae, Poaceae, Polemoniaceae, Primulaceae, Ranunculaceae, Rosaceae, Rubiaceae, Scrophulariaceae, Solanaceae, Tropaeolaceae, Umbelliferae, Verbenaceae, Vitaceae und Violaceae verwendet.

- 20 69. Genetisch veränderte Pflanze nach Anspruch 68, dadurch gekennzeichnet, dass Pflanzen ausgewählt sind aus den Pflanzengattungen Marigold, *Tagetes erecta*, *Tagetes patula*, *Acacia*, *Aconitum*, *Adonis*, *Arnica*, *Aquilegia*, *Aster*, *Astragalus*, *Bignonia*, *Calendula*, *Caltha*, *Campanula*, *Canna*, *Centaurea*, *Cheiranthus*, *Chrysanthemum*, *Citrus*, *Crepis*, *Crocus*, *Curcurbita*, *Cytisus*, *Delonia*, *Delphinium*, *Dianthus*, *Dimorphotheca*, *Doronicum*, *Eschscholtzia*, *Forsythia*, *Fremontia*, *Gazania*, *Gelsemium*, *Genista*, *Gentiana*, *Geranium*, *Gerbera*, *Geum*, *Grevillea*, *Helenium*, *Helianthus*, *Hepatica*, *Heracleum*, *Hibiscus*, *Heliopsis*, *Hypericum*, *Hypochoeris*,

Impatiens, Iris, Jacaranda, Kerria, Laburnum, Lathyrus, Leontodon, Lilium, Linum,
Lotus, Lycopersicon, Lysimachia, Maratia, Medicago, Mimulus, Narcissus, Oe-
nothera, Osmanthus, Petunia, Photinia, Physalis, Phyteuma, Potentilla, Pyra-
cantha, Ranunculus, Rhododendron, Rosa, Rudbeckia, Senecio, Silene, Silphium,
5 Sinapis, Sorbus, Spartium, Tecoma, Torenia, Tragopogon, Trollius, Tropaeolum,
Tulipa, Tussilago, Ulex, Viola oder Zinnia verwendet.

70. Verwendung der genetisch veränderten Organismen nach einem der Ansprüche
63 bis 69 als Futter- oder Nahrungsmittel.

10

71. Verwendung der genetisch veränderten Organismen nach einem der Ansprüche
63 bis 69 zur Herstellung von Ketocarotinoid-haltigen Extrakten oder zur Herstel-
lung von Futter- und Nahrungsergänzungsmittel.

15

SEQUENCE LISTING

<110> SunGene GmbH & Co. KGaA

<120> Verfahren zur Herstellung von Ketocarotinoiden in genetisch veränderten, nicht-humanen Organismen

<130> PF 55340

<160> 131

<170> PatentIn version 3.1

<210> 1

<211> 1666

<212> DNA

<213> Lycopersicon esculentum

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(1494)

<223>

<400> 1

atg gaa gct ctt ctc aag cct ttt cca tct ctt tta ctt tcc tct cct 48
Met Glu Ala Leu Leu Lys Pro Phe Pro Ser Leu Leu Ser Ser Pro
1 5 10 15

aca ccc cat agg tct att ttc caa caa aat ccc tct ttt cta agt ccc 96
Thr Pro His Arg Ser Ile Phe Gln Gln Asn Pro Ser Phe Leu Ser Pro
20 25 30

acc acc aaa aaa aaa tca aga aaa tgt ctt ctt aga aac aaa agt agt		144	
Thr Thr Lys Lys Lys Ser Arg Lys Cys Leu Leu Arg Asn Lys Ser Ser			
35	40	45	
aaa ctt ttt tgt agc ttt ctt gat tta gca ccc aca tca aag cca gag		192	
Lys Leu Phe Cys Ser Phe Leu Asp Leu Ala Pro Thr Ser Lys Pro Glu			
50	55	60	
tct tta gat gtt aac atc tca tgg gtt gat cct aat tcg aat cggt gct		240	
Ser Leu Asp Val Asn Ile Ser Trp Val Asp Pro Asn Ser Asn Arg Ala			
65	70	75	80
caa ttc gac gtg atc att atc gga gct ggc cct gct ggg ctc agg cta		288	
Gln Phe Asp Val Ile Ile Ile Gly Ala Gly Pro Ala Gly Leu Arg Leu			
85	90	95	
gct gaa caa gtt tct aaa tat ggt att aag gta tgg tgg gtt gac cct		336	
Ala Glu Gln Val Ser Lys Tyr Gly Ile Lys Val Cys Cys Val Asp Pro			
100	105	110	
tca cca ctc tcc atg tgg cca aat aat tat ggt gtt tgg gtt gat gag		384	
Ser Pro Leu Ser Met Trp Pro Asn Asn Tyr Gly Val Trp Val Asp Glu			
115	120	125	
ttt gag aat tta gga ctg gaa aat tgg tta gat cat aaa tgg cct atg		432	
Phe Glu Asn Leu Gly Leu Glu Asn Cys Leu Asp His Lys Trp Pro Met			
130	135	140	
act tgt gtg cat ata aat gat aac aaa act aag tat ttg gga aga cca		480	
Thr Cys Val His Ile Asn Asp Asn Lys Thr Lys Tyr Leu Gly Arg Pro			
145	150	155	160
tat ggt aga gtt agt aga aag aag ctg aag ttg aaa ttg ttg aat agt		528	
Tyr Gly Arg Val Ser Arg Lys Lys Leu Lys Leu Lys Leu Asn Ser			
165	170	175	
tgt gtt gag aac aga gtg aag ttt tat aaa gct aag gtt tgg aaa gtg		576	
Cys Val Glu Asn Arg Val Lys Phe Tyr Lys Ala Lys Val Trp Lys Val			
180	185	190	
gaa cat gaa gaa ttt gag tct tca att gtt tgg gat gat ggt aag aag		624	
Glu His Glu Glu Phe Glu Ser Ser Ile Val Cys Asp Asp Gly Lys Lys			
195	200	205	
ata aga ggt agt ttg gtt gtg gat gca agt ggt ttt gct agt gat ttt		672	
Ile Arg Gly Ser Leu Val Val Asp Ala Ser Gly Phe Ala Ser Asp Phe			
210	215	220	
ata gag tat gac agg cca aga aac cat ggt tat caa att gct cat ggg		720	
Ile Glu Tyr Asp Arg Pro Arg Asn His Gly Tyr Gln Ile Ala His Gly			
225	230	235	240

gtt tta gta gaa gtt gat aat cat cca ttt gat ttg gat aaa atg gtg Val Leu Val Glu Val Asp Asn His Pro Phe Asp Leu Asp Lys Met Val	245	250	255	768
ctt atg gat tgg agg gat tct cat ttg ggt aat gag cca tat tta agg Leu Met Asp Trp Arg Asp Ser His Leu Gly Asn Glu Pro Tyr Leu Arg	260	265	270	816
gtg aat aat gct aaa gaa cca aca ttc ttg tat gca atg cca ttt gat Val Asn Asn Ala Lys Glu Pro Thr Phe Leu Tyr Ala Met Pro Phe Asp	275	280	285	864
aga gat ttg gtt ttc ttg gaa gag act tct ttg gtg agt cgt cct gtt Arg Asp Leu Val Phe Leu Glu Glu Thr Ser Leu Val Ser Arg Pro Val	290	295	300	912
tta tcg tat atg gaa gta aaa aga agg atg gtg gca aga tta agg cat Leu Ser Tyr Met Glu Val Lys Arg Arg Met Val Ala Arg Leu Arg His	305	310	315	320
ttg ggg atc aaa gtg aaa agt gtt att gag gaa gag aaa tgt gtg atc Leu Gly Ile Lys Val Lys Ser Val Ile Glu Glu Lys Cys Val Ile	325	330	335	1008
cct atg gga gga cca ctt ccg cgg att cct caa aat gtt atg gct att Pro Met Gly Gly Pro Leu Pro Arg Ile Pro Gln Asn Val Met Ala Ile	340	345	350	1056
gtt ggg aat tca ggg ata gtt cat cca tca aca ggg tac atg gtg gct Gly Gly Asn Ser Gly Ile Val His Pro Ser Thr Gly Tyr Met Val Ala	355	360	365	1104
agg agc atg gct tta gca cca gta cta gct gaa gcc atc gtc gag ggg Arg Ser Met Ala Leu Ala Pro Val Leu Ala Glu Ala Ile Val Glu Gly	370	375	380	1152
ctt ggc tca aca aga atg ata aga ggg tct caa ctt tac cat aga gtt Leu Gly Ser Thr Arg Met Ile Arg Gly Ser Gln Leu Tyr His Arg Val	385	390	395	400
tgg aat ggt ttg tgg cct ttg gat aga aga tgt gtt aga gaa tgt tat Trp Asn Gly Leu Trp Pro Leu Asp Arg Arg Cys Val Arg Glu Cys Tyr	405	410	415	1248
tca ttt ggg atg gag aca ttg ttg aag ctt gat ttg aaa ggg act agg Ser Phe Gly Met Glu Thr Leu Leu Lys Leu Asp Leu Lys Gly Thr Arg	420	425	430	1296
aga ttg ttt gac gct ttc ttg gat ctt gat cct aaa tac tgg caa ggg Arg Leu Phe Asp Ala Phe Asp Leu Asp Pro Lys Tyr Trp Gln Gly	435	440	445	1344

ttc ctt tct tca aga ttg tct gtc aaa gaa ctt ggt tta ctc agc ttg 1392
 Phe Leu Ser Ser Arg Leu Ser Val Lys Glu Leu Gly Leu Leu Ser Leu
 450 455 460

tgt ctt ttc gga cat ggc tca aac atg act agg ttg gat att gtt aca 1440
 Cys Leu Phe Gly His Gly Ser Asn Met Thr Arg Leu Asp Ile Val Thr
 465 470 475 480

aaa tgt ect ctt cct ttg gtt aga ctg att ggc aat cta gca ata gag 1488
 Lys Cys Pro Leu Pro Leu Val Arg Leu Ile Gly Asn Leu Ala Ile Glu
 485 490 495

agc ctt tgaatgtgaa aagtttgaat cattttcttc attttaattt ctttgattat 1544
 Ser Leu

tttcatatattt tctcaattgc aaaagtgaga taagagctac atactgtcaa caaataaact 1604

actattggaa agttaaaaata tgtgtttgtt gtatgttatt ctaatggaat ggattttgta 1664

aa 1666

<210> 2

<211> 498

<212> PRT

<213> *Lycopersicon esculentum*

<400> 2

Met Glu Ala Leu Leu Lys Pro Phe Pro Ser Leu Leu Leu Ser Ser Pro
 1 5 10 15

Thr Pro His Arg Ser Ile Phe Gln Gln Asn Pro Ser Phe Leu Ser Pro
 20 25 30

Thr Thr Lys Lys Ser Arg Lys Cys Leu Leu Arg Asn Lys Ser Ser
 35 40 45

Lys Leu Phe Cys Ser Phe Leu Asp Leu Ala Pro Thr Ser Lys Pro Glu
 50 55 60

Ser Leu Asp Val Asn Ile Ser Trp Val Asp Pro Asn Ser Asn Arg Ala

65

70

75

80

Gln Phe Asp Val Ile Ile Ile Gly Ala Gly Pro Ala Gly Leu Arg Leu
85 90 95

Ala Glu Gln Val Ser Lys Tyr Gly Ile Lys Val Cys Cys Val Asp Pro
100 105 110

Ser Pro Leu Ser Met Trp Pro Asn Asn Tyr Gly Val Trp Val Asp Glu
115 120 125

Phe Glu Asn Leu Gly Leu Glu Asn Cys Leu Asp His Lys Trp Pro Met
130 135 140

Thr Cys Val His Ile Asn Asp Asn Lys Thr Lys Tyr Leu Gly Arg Pro
145 150 155 160

Tyr Gly Arg Val Ser Arg Lys Lys Leu Lys Leu Lys Leu Asn Ser
165 170 175

Cys Val Glu Asn Arg Val Lys Phe Tyr Lys Ala Lys Val Trp Lys Val
180 185 190

Glu His Glu Glu Phe Glu Ser Ser Ile Val Cys Asp Asp Gly Lys Lys
195 200 205

Ile Arg Gly Ser Leu Val Val Asp Ala Ser Gly Phe Ala Ser Asp Phe
210 215 220

Ile Glu Tyr Asp Arg Pro Arg Asn His Gly Tyr Gln Ile Ala His Gly
225 230 235 240

Val Leu Val Glu Val Asp Asn His Pro Phe Asp Leu Asp Lys Met Val
245 250 255

Leu Met Asp Trp Arg Asp Ser His Leu Gly Asn Glu Pro Tyr Leu Arg
260 265 270

Val Asn Asn Ala Lys Glu Pro Thr Phe Leu Tyr Ala Met Pro Phe Asp

275

280

285

Arg Asp Leu Val Phe Leu Glu Glu Thr Ser Leu Val Ser Arg Pro Val
290 295 300

Leu Ser Tyr Met Glu Val Lys Arg Arg Met Val Ala Arg Leu Arg His
305 310 315 320

Leu Gly Ile Lys Val Lys Ser Val Ile Glu Glu Glu Lys Cys Val Ile
325 330 335

Pro Met Gly Gly Pro Leu Pro Arg Ile Pro Gln Asn Val Met Ala Ile
340 345 350

Gly Gly Asn Ser Gly Ile Val His Pro Ser Thr Gly Tyr Met Val Ala
355 360 365

Arg Ser Met Ala Leu Ala Pro Val Leu Ala Glu Ala Ile Val Glu Gly
370 375 380

Leu Gly Ser Thr Arg Met Ile Arg Gly Ser Gln Leu Tyr His Arg Val
385 390 395 400

Trp Asn Gly Leu Trp Pro Leu Asp Arg Arg Cys Val Arg Glu Cys Tyr
405 410 415

Ser Phe Gly Met Glu Thr Leu Leu Lys Leu Asp Leu Lys Gly Thr Arg
420 425 430

Arg Leu Phe Asp Ala Phe Phe Asp Leu Asp Pro Lys Tyr Trp Gln Gly
435 440 445

Phe Leu Ser Ser Arg Leu Ser Val Lys Glu Leu Gly Leu Leu Ser Leu
450 455 460

Cys Leu Phe Gly His Gly Ser Asn Met Thr Arg Leu Asp Ile Val Thr
465 470 475 480

Lys Cys Pro Leu Pro Leu Val Arg Leu Ile Gly Asn Leu Ala Ile Glu

Ser Leu

<210> 3

<211> 1771

<212> DNA

<213> Haematococcus pluvialis

<220>

<221> CDS

<222> (166)..(1155)

<223>

<400> 3				
ggcacgagct tgcacgcaag tcagcgcgcg caagtcaaca cctgccggtc cacagcctca				60
aataataaaag agctcaagcg tttgtgcgcc tcgacgtggc cagtcgtcac tgccttgaac				120
ccgcgcgact cccgcgcac tgactgccat agcacagcta gacga atg cag cta gca				177
Met Gln Leu Ala				
1				
gcg aca gta atg ttg gag cag ctt acc gga agc gct gag gca ctc aag				225
Ala Thr Val Met Leu Glu Gln Leu Thr Gly Ser Ala Glu Ala Leu Lys				
5 10 15 20				
gag aag gag aag gag gtt gca ggc agc tct gac gtg ttg cgt aca tgg				273
Glu Lys Glu Lys Glu Val Ala Gly Ser Ser Asp Val Leu Arg Thr Trp				
25 30 35				
gcg acc cag tac tcg ctt ccg tca gaa gag tca gac gcg gcc cgc ccg				321
Ala Thr Gln Tyr Ser Leu Pro Ser Glu Glu Ser Asp Ala Ala Arg Pro				
40 45 50				
gga ctg aag aat gcc tac aag cca cca cct tcc gac aca aag ggc atc				369
Gly Leu Lys Asn Ala Tyr Lys Pro Pro Pro Ser Asp Thr Lys Gly Ile				
55 60 65				

aca atg gcg cta cgt gtc atc ggc tcc tgg gcc gca gtg ttc ctc cac	70	75	80	417
Thr Met Ala Leu Arg Val Ile Gly Ser Trp Ala Ala Val Phe Leu His				
gcc att ttt caa atc aag ctt ccg acc tcc ttg gac cag ctg cac tgg	85	90	95	465
Ala Ile Phe Gln Ile Lys Leu Pro Thr Ser Leu Asp Gln Leu His Trp				
ctg ccc gtg tca gat gcc aca gct cag ctg gtt agc ggc acg agc agc	105	110	115	513
Leu Pro Val Ser Asp Ala Thr Ala Gln Leu Val Ser Gly Thr Ser Ser				
ctg ctc gac atc gtc gta gta ttc ttt gtc ctg gag ttc ctg tac aca	120	125	130	561
Leu Leu Asp Ile Val Val Phe Phe Val Leu Glu Phe Leu Tyr Thr				
ggc ctt ttt atc acc acg cat gat gct atg cat ggc acc atc gcc atg	135	140	145	609
Gly Leu Phe Ile Thr His Asp Ala Met His Gly Thr Ile Ala Met				
aga aac agg cag ctt aat gac ttc ttg ggc aga gta tgc atc tcc ttg	150	155	160	657
Arg Asn Arg Gln Leu Asn Asp Phe Leu Gly Arg Val Cys Ile Ser Leu				
tac gcc tgg ttt gat tac aac atg ctg cac cgc aag cat tgg gag cac	165	170	175	705
Tyr Ala Trp Phe Asp Tyr Asn Met Leu His Arg Lys His Trp Glu His				
cac aac cac act ggc gag gtg ggc aag gac cct gac ttc cac agg gga	185	190	195	753
His Asn His Thr Gly Glu Val Gly Lys Asp Pro Asp Phe His Arg Gly				
aac cct ggc att gtg ccc tgg ttt gcc agc ttc atg tcc agc tac atg	200	205	210	801
Asn Pro Gly Ile Val Pro Trp Phe Ala Ser Phe Met Ser Ser Tyr Met				
tcg atg tgg cag ttt gcg cgc ctc gca tgg tgg acg gtg gtc atg cag	215	220	225	849
Ser Met Trp Gln Phe Ala Arg Leu Ala Trp Trp Thr Val Val Met Gln				
ctg ctg ggt gcg cca atg gcg aac ctg ctg gtg ttc atg gcg gcc gcg	230	235	240	897
Leu Leu Gly Ala Pro Met Ala Asn Leu Leu Val Phe Met Ala Ala Ala				
ccc atc ctg tcc gcc ttc cgc ttg ttc tac ttt ggc acg tac atg ccc	245	250	255	945
Pro Ile Leu Ser Ala Phe Arg Leu Phe Tyr Phe Gly Thr Tyr Met Pro				
cac aag cct gag cct ggc gcc gcg tca ggc tct tca cca gcc gtc atg	265	270	275	993
His Lys Pro Glu Pro Gly Ala Ala Ser Gly Ser Ser Pro Ala Val Met				

aac tgg tgg aag tcg cgc act agc cag gcg tcc gac ctg gtc agc ttt 1041
 Asn Trp Trp Lys Ser Arg Thr Ser Gln Ala Ser Asp Leu Val Ser Phe
 280 285 290

 ctg acc tgc tac cac ttc gac ctg cac tgg gag cac cac cgc tgg ccc 1089
 Leu Thr Cys Tyr His Phe Asp Leu His Trp Glu His His Arg Trp Pro
 295 300 305

 ttc gcc ccc tgg tgg gag ctg ccc aac tgc cgc cgc ctg tct ggc cga 1137
 Phe Ala Pro Trp Trp Glu Leu Pro Asn Cys Arg Arg Leu Ser Gly Arg
 310 315 320

 ggt ctg gtt cct gcc tag ctggacacac tgcaagtggc cctgctgcc 1185
 Gly Leu Val Pro Ala
 325

 gctggcatg cagggtgtgg caggactgg tgaggtgaaa agctgcaggc gctgctgcc 1245

 gacacgctgc atgggctacc ctgtgttagct gcccacta ggggaggggg ttttagctg 1305

 tcgagcttgc cccatggatg aagctgtgta gtgggtcagg gactacaccc acaggccaac 1365

 acccttgcag gagatgtctt gcgtcggag gactgttgg cagttagat gctatgattg 1425

 tatcttaatg ctgaagcctt taggggagcg acacttagtg ctggcaggc aacgcctgc 1485

 aaggtgcagg cacaagctag gctggacgag gactcggtgg caggcaggta aagaggtgcg 1545

 ggagggtgtt gccacaccca ctggcaaga ccatgctgca atgctggcgg tgtggcagt 1605

 agagctgcgt gattaactgg gctatggatt gttttagcag tctcaattat tctttgat 1665

 agatacttgtt caggcaggta aggagagtga gttatgaaacaa gttgagaggt ggtgcgtgc 1725

 ccctgcgtt atgaagctgt aacaataaaag tggttcaaaa aaaaaa 1771

<210> 4

<211> 329

<212> PRT

<213> Haematococcus pluvialis

<400> 4

Met	Gln	Leu	Ala	Ala	Thr	Val	Met	Leu	Glu	Gln	Leu	Thr	Gly	Ser	Ala	
1							5							10		15

Glu Ala Leu Lys Glu Lys Glu Lys Glu Val Ala Gly Ser Ser Asp Val
20 25 30

Leu Arg Thr Trp Ala Thr Gln Tyr Ser Leu Pro Ser Glu Glu Ser Asp
35 40 45

Ala Ala Arg Pro Gly Leu Lys Asn Ala Tyr Lys Pro Pro Pro Ser Asp
50 55 60

Thr Lys Gly Ile Thr Met Ala Leu Arg Val Ile Gly Ser Trp Ala Ala
65 70 75 80

Val Phe Leu His Ala Ile Phe Gln Ile Lys Leu Pro Thr Ser Leu Asp
85 90 95

Gln Leu His Trp Leu Pro Val Ser Asp Ala Thr Ala Gln Leu Val Ser
100 105 110

Gly Thr Ser Ser Leu Leu Asp Ile Val Val Val Phe Phe Val Leu Glu
115 120 125

Phe Leu Tyr Thr Gly Leu Phe Ile Thr Thr His Asp Ala Met His Gly
130 135 140

Thr Ile Ala Met Arg Asn Arg Gln Leu Asn Asp Phe Leu Gly Arg Val
145 150 155 160

Cys Ile Ser Leu Tyr Ala Trp Phe Asp Tyr Asn Met Leu His Arg Lys
165 170 175

His Trp Glu His His Asn His Thr Gly Glu Val Gly Lys Asp Pro Asp
180 185 190

Phe His Arg Gly Asn Pro Gly Ile Val Pro Trp Phe Ala Ser Phe Met
195 200 205

Ser Ser Tyr Met Ser Met Trp Gln Phe Ala Arg Leu Ala Trp Trp Thr
210 215 220

Val Val Met Gln Leu Leu Gly Ala Pro Met Ala Asn Leu Leu Val Phe
225 230 235 240

Met Ala Ala Ala Pro Ile Leu Ser Ala Phe Arg Leu Phe Tyr Phe Gly
245 250 255

Thr Tyr Met Pro His Lys Pro Glu Pro Gly Ala Ala Ser Gly Ser Ser
260 265 270

Pro Ala Val Met Asn Trp Trp Lys Ser Arg Thr Ser Gln Ala Ser Asp
275 280 285

Leu Val Ser Phe Leu Thr Cys Tyr His Phe Asp Leu His Trp Glu His
290 295 300

His Arg Trp Pro Phe Ala Pro Trp Trp Glu Leu Pro Asn Cys Arg Arg
305 310 315 320

Leu Ser Gly Arg Gly Leu Val Pro Ala
325

<210> 5

<211> 1163

<212> DNA

<213> Lycopersicon esculentum

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(942)

<223>

<400> 5

att cgg cac gag att tca gcc tcc gct agt tcc cga acc att cgc ctc
Ile Arg His Glu Ile Ser Ala Ser Ser Arg Thr Ile Arg Leu

1	5	10	15
cgt cat aac ccg ttt ctc agt cca aaa tcc gcc tca acc gcc ccg ccg Arg His Asn Pro Phe Leu Ser Pro Lys Ser Ala Ser Thr Ala Pro Pro	20	25	30
gtt ctg ttc ttc tct ccg tta act cgc aat ttt ggc gca att ttg ctg Val Leu Phe Phe Ser Pro Leu Thr Arg Asn Phe Gly Ala Ile Leu Leu	35	40	45
tct aga aga aag ccg aga ttg gcg gtt tgt ttt gtg ctg gag aat gag Ser Arg Arg Lys Pro Arg Leu Ala Val Cys Phe Val Leu Glu Asn Glu	50	55	60
aaa ttg aat agt act atc gaa agt gag agt gaa gta ata gag gat cgg Lys Leu Asn Ser Thr Ile Glu Ser Glu Ser Glu Val Ile Glu Asp Arg	65	70	75
ata caa gta gag att aat gag gag aag agt tta gct gcc agt tgg ctg Ile Gln Val Glu Ile Asn Glu Glu Lys Ser Leu Ala Ala Ser Trp Leu	85	90	95
gcg gag aaa ttg gcg agg aag aaa tcg gag agg ttt act tat ctt gtg Ala Glu Lys Leu Ala Arg Lys Lys Ser Glu Arg Phe Thr Tyr Leu Val	100	105	110
gca gct gtg atg tct agt ttg ggg att act tct atg gcg att ttg gcg Ala Ala Val Met Ser Ser Leu Gly Ile Thr Ser Met Ala Ile Leu Ala	115	120	125
gtt tat tac aga ttt tca tgg caa atg gag ggt gga gaa gtg cct ttt Val Tyr Tyr Arg Phe Ser Trp Gln Met Glu Gly Glu Val Pro Phe	130	135	140
tct gaa atg tta gct aca ttc act ctc tcg ttt ggc gct gcc gta gga Ser Glu Met Leu Ala Thr Phe Thr Leu Ser Phe Gly Ala Ala Val Gly	145	150	155
atg gag tac tgg gcg aga tgg gct cat aga gca cta tgg cat gct tct Met Glu Tyr Trp Ala Arg Trp Ala His Arg Ala Leu Trp His Ala Ser	165	170	175
tta tgg cac atg cac gag tcg cac cat aga cca aga gaa gga cct ttt Leu Trp His Met His Glu Ser His His Arg Pro Arg Glu Gly Pro Phe	180	185	190
gag atg aac gac gtt ttc gcc ata aca aat gct gtt cca gct ata ggt Glu Met Asn Asp Val Phe Ala Ile Thr Asn Ala Val Pro Ala Ile Gly	195	200	205
ctt ctt tcc tac ggt ttc ttc cat aaa ggg atc gtc cct ggc ctc tgt Leu Leu Ser Tyr Gly Phe Phe His Lys Gly Ile Val Pro Gly Leu Cys			672

210

215

320

ttc ggc gct gga ttg ggg atc aca gta ttt ggg atg gct tac atg ttc 720
 Phe Gly Ala Gly Leu Gly Ile Thr Val Phe Gly Met Ala Tyr Met Phe
 225 230 235 240

gtt cac gat gga ctg gtt cat aag aga ttt ccc gta ggg cct att gcc 768
Val His Asp Gly Leu Val His Lys Arg Phe Pro Val Gly Pro Ile Ala
245 250 255

aac gtg cct tac ttt cg^g agg gta gct gca gca cat cag ctt cat cac 816
Asn Val Pro Tyr Phe Arg Arg Val Ala Ala Ala His Gln Leu His His
.
260 265 270

gaa ttg gaa gaa gta gga gga ctt gaa gag tta gaa aag gaa gtc aac 912
 Glu Leu Glu Glu Val Gly Gly Leu Glu Glu Leu Glu Lys Glu Val Asn
 290 295 300

cga agg att aaa att tct aag gga tta tta tgatcaaaag atacgtctga 962
Arg Arg Ile Lys Ile Ser Lys Gly Leu Leu
305 310

taataataaa atgcgattgt atttaggctg tagattatta ttggggaaaaaa gatagaaaaga 1022

tatataatatg aataataat aaaaatgcac aagctttcta tggagaagac cttttttttt 1081

ttggtaacctg tacgtaaaag gtgaacaatt tgatgtccctt gtacttgttg acaaaccaga 114

agaacgataa ttcaaaaaca a 116:

<210> 6

<211> 314

<212> PRT

<213> Lycopersicon esculentum

<400> 6

Ile	Arg	His	Glu	Ile	Ser	Ala	Ser	Ala	Ser	Ser	Arg	Thr	Ile	Arg	Leu
1			5	.				10					15		

Arg His Asn Pro Phe Leu Ser Pro Lys Ser Ala Ser Thr Ala Pro Pro

14

20

25

30

Val Leu Phe Phe Ser Pro Leu Thr Arg Asn Phe Gly Ala Ile Leu Leu
35 40 45

Ser Arg Arg Lys Pro Arg Leu Ala Val Cys Phe Val Leu Glu Asn Glu
50 55 60

Lys Leu Asn Ser Thr Ile Glu Ser Glu Ser Glu Val Ile Glu Asp Arg
65 70 75 80

Ile Gln Val Glu Ile Asn Glu Glu Lys Ser Leu Ala Ala Ser Trp Leu
85 90 95

Ala Glu Lys Leu Ala Arg Lys Lys Ser Glu Arg Phe Thr Tyr Leu Val
100 105 110

Ala Ala Val Met Ser Ser Leu Gly Ile Thr Ser Met Ala Ile Leu Ala
115 120 125

Val Tyr Tyr Arg Phe Ser Trp Gln Met Glu Gly Gly Glu Val Pro Phe
130 135 140

Ser Glu Met Leu Ala Thr Phe Thr Leu Ser Phe Gly Ala Ala Val Gly
145 150 155 160

Met Glu Tyr Trp Ala Arg Trp Ala His Arg Ala Leu Trp His Ala Ser
165 170 175

Leu Trp His Met His Glu Ser His His Arg Pro Arg Glu Gly Pro Phe
180 185 190

Glu Met Asn Asp Val Phe Ala Ile Thr Asn Ala Val Pro Ala Ile Gly
195 200 205

Leu Leu Ser Tyr Gly Phe Phe His Lys Gly Ile Val Pro Gly Leu Cys
210 215 220

Phe Gly Ala Gly Leu Gly Ile Thr Val Phe Gly Met Ala Tyr Met Phe

225

230

235

240

Val His Asp Gly Leu Val His Lys Arg Phe Pro Val Gly Pro Ile Ala
245 250 255

Asn Val Pro Tyr Phe Arg Arg Val Ala Ala Ala His Gln Leu His His
260 265 270

Ser Asp Lys Phe Asp Gly Val Pro Tyr Gly Leu Phe Leu Gly Pro Lys
275 280 285

Glu Leu Glu Glu Val Gly Gly Leu Glu Glu Leu Glu Lys Glu Val Asn
290 295 300

Arg Arg Ile Lys Ile Ser Lys Gly Leu Leu
305 310

<210> 7

<211> 1779

<212> DNA

<213> Arabidopsis thaliana

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(1779)

<223>

<400> 7

atg gat ctc cgt cgg agg cct cct aaa cca ccg gtt acc aac aac aac
Met Asp Leu Arg Arg Pro Pro Lys Pro Pro Val Thr Asn Asn Asn
1 5 10 15

48

aac tcc aac gga tct ttc cgt tct tat cag cct cgc act tcc gat gac
Asn Ser Asn Gly Ser Phe Arg Ser Tyr Gln Pro Arg Thr Ser Asp Asp
20 25 30

96

gat cat cgt cgc cgg gct aca aca att gct cct cca ccg aaa gca tcc Asp His Arg Arg Ala Thr Thr Ile Ala Pro Pro Pro Lys Ala Ser	144
35 40 45	
 gac gcg ctt cct ctt ccg tta tat ctc aca aac gcc gtt ttc ttc acg Asp Ala Leu Pro Leu Pro Leu Tyr Leu Thr Asn Ala Val Phe Phe Thr	192
50 55 60	
 ctc ttc ttc tcc gtc gcg tat tac ctc ctc cac ccg tgg cgt gac aag Leu Phe Phe Ser Val Ala Tyr Tyr Leu Leu His Arg Trp Arg Asp Lys	240
65 70 75 80	
 atc cgt tac aat acg cct ctt cac gtc gtc act atc aca gaa ctc ggc Ile Arg Tyr Asn Thr Pro Leu His Val Val Thr Ile Thr Glu Leu Gly	288
85 90 95	
 gcc att att gct ctc atc gct tcg ttt atc tat ctc cta ggg ttt ttt Ala Ile Ile Ala Leu Ile Ala Ser Phe Ile Tyr Leu Leu Gly Phe Phe	336
100 105 110	
 ggg att gac ttt gtt cag tca ttt atc tca cgt gcc tct ggt gat gct Gly Ile Asp Phe Val Gln Ser Phe Ile Ser Arg Ala Ser Gly Asp Ala	384
115 120 125	
 tgg gat ctc gcc gat acg atc gat gat gat gac cac ccg ctt gtc acg Trp Asp Leu Ala Asp Thr Ile Asp Asp Asp His Arg Leu Val Thr	432
130 135 140	
 tgc tct cca ccg act ccg atc gtt tcc gtt gct aaa tta cct aat ccg Cys Ser Pro Pro Thr Pro Ile Val Ser Val Ala Lys Leu Pro Asn Pro	480
145 150 155 160	
 gaa cct att gtt acc gaa tcg ctt cct gag gaa gac gag gag att gtg Glu Pro Ile Val Thr Glu Ser Leu Pro Glu Glu Asp Glu Glu Ile Val	528
165 170 175	
 aaa tcg gtt atc gac gga gtt att cca tcg tac tcg ctt gaa tct cgt Lys Ser Val Ile Asp Gly Val Ile Pro Ser Tyr Ser Leu Glu Ser Arg	576
180 185 190	
 ctc ggt gat tgc aaa aga gcg gcg tcg att cgt cgt gag gac ttg cag Leu Gly Asp Cys Lys Arg Ala Ala Ser Ile Arg Arg Glu Ala Leu Gln	624
195 200 205	
 aga gtc acc ggg aga tcg att gaa ggg tta ccg ttg gat gga ttt gat Arg Val Thr Gly Arg Ser Ile Glu Gly Leu Pro Leu Asp Gly Phe Asp	672
210 215 220	
 tat gaa tcg att ttg ggg caa tgc tgt gag atg cct gtt gga tac att Tyr Glu Ser Ile Leu Gly Gln Cys Cys Glu Met Pro Val Gly Tyr Ile	720
225 230 235 240	

cag att cct gtt ggg att gct ggt cca ttg ttg ctt gat ggt tat gag Gln Ile Pro Val Gly Ile Ala Gly Pro Leu Leu Leu Asp Gly Tyr Glu 245 250 255	768
tac tct gtt cct atg gct aca acc gaa ggt tgt ttg gtt gct agc act Tyr Ser Val Pro Met Ala Thr Thr Glu Gly Cys Leu Val Ala Ser Thr 260 265 270	816
aac aga ggc tgc aag gct atg ttt atc tct ggt ggc gcc acc agt acc Asn Arg Gly Cys Lys Ala Met Phe Ile Ser Gly Gly Ala Thr Ser Thr 275 280 285	864
gtt ctt aa g gac ggt atg acc cga gca cct gtt gtt cgg ttc gct tcg Val Leu Lys Asp Gly Met Thr Arg Ala Pro Val Val Arg Phe Ala Ser 290 295 300	912
gcg aga cga gct tcg gag ctt aag ttt ttc ttg gag aat cca gag aac Ala Arg Arg Ala Ser Glu Leu Lys Phe Phe Leu Glu Asn Pro Glu Asn 305 310 315 320	960
ttt gat act ttg gca gta gtc ttc aac agg tcg agt aga ttt gca aga Phe Asp Thr Leu Ala Val Val Phe Asn Arg Ser Ser Arg Phe Ala Arg 325 330 335	1008
ctg caa agt gtt aaa tgc aca atc gcg ggg aag aat gct tat gta agg Leu Gln Ser Val Lys Cys Thr Ile Ala Gly Lys Asn Ala Tyr Val Arg 340 345 350	1056
ttc tgt tgt act ggt gat gct atg ggg atg aat atg gtt tct aaa Phe Cys Cys Ser Thr Gly Asp Ala Met Gly Met Asn Met Val Ser Lys 355 360 365	1104
ggt gtg cag aat gtt ctt gag tat ctt acc gat gat ttc cct gac atg Gly Val Gln Asn Val Leu Glu Tyr Leu Thr Asp Asp Phe Pro Asp Met 370 375 380	1152
gat gtg att gga atc tct ggt aac ttc tgt tcg gac aag aaa cct gct Asp Val Ile Gly Ile Ser Gly Asn Phe Cys Ser Asp Lys Lys Pro Ala 385 390 395 400	1200
gct gtg aac tgg att gag gga cgt ggt aaa tca gtt gtt tgc gag gct Ala Val Asn Trp Ile Glu Gly Arg Gly Lys Ser Val Val Cys Glu Ala 405 410 415	1248
gta atc aga gga gag atc gtg aac aag gtc ttg aaa acg agc gtg gct Val Ile Arg Gly Glu Ile Val Asn Lys Val Leu Lys Thr Ser Val Ala 420 425 430	1296
gct tta gtc gag ctc aac atg ctc aag aac cta gct ggc tct gct gtt Ala Leu Val Glu Leu Asn Met Leu Lys Asn Leu Ala Gly Ser Ala Val 435 440 445	1344

gca ggc tct cta ggt gga ttc aac gct cat gcc agt aac ata gtg tct 1392
 Ala Gly Ser Leu Gly Gly Phe Asn Ala His Ala Ser Asn Ile Val Ser
 450 455 460

gct gta ttc ata gct act ggc caa gat cca gct caa aac gtg gag agt 1440
 Ala Val Phe Ile Ala Thr Gly Gln Asp Pro Ala Gln Asn Val Glu Ser
 465 470 475 480

tct caa tgc atc acc atg atg gaa gct att aat gac ggc aaa gat atc 1488
 Ser Gln Cys Ile Thr Met Met Glu Ala Ile Asn Asp Gly Lys Asp Ile
 485 490 495

cat atc tca gtc act atg cca tct atc gag gtg ggg aca gtg gga gga 1536
 His Ile Ser Val Thr Met Pro Ser Ile Glu Val Gly Thr Val Gly Gly
 500 505 510

gga aca cag ctt gca tct caa tca gcg tgt tta aac ctg ctc gga gtt 1584
 Gly Thr Gln Leu Ala Ser Gln Ser Ala Cys Leu Asn Leu Leu Gly Val
 515 520 525

aaa gga gca agc aca gag tcg ccg gga atg aac gca agg agg cta gcg 1632
 Lys Gly Ala Ser Thr Glu Ser Pro Gly Met Asn Ala Arg Arg Leu Ala
 530 535 540

acg atc gta gcc gga gca gtt tta gct gga gag tta tct tt_a atg tca 1680
 Thr Ile Val Ala Gly Ala Val Leu Ala Gly Glu Leu Ser Leu Met Ser
 545 550 555 560

gca att gca gct gga cag ctt gtg aga agt cac atg aaa tac aat aga 1728
 Ala Ile Ala Ala Gly Gln Leu Val Arg Ser His Met Lys Tyr Asn Arg
 565 570 575

tcc agc cga gac atc tct gga gca acg aca acg aca aca aca aca 1776
 Ser Ser Arg Asp Ile Ser Gly Ala Thr Thr Thr Thr Thr Thr Thr
 580 585 590

tga 1779

<210> 8

<211> 592

<212> PRT

<213> *Arabidopsis thaliana*

<400> 8

Met Asp Leu Arg Arg Arg Pro Pro Lys Pro Pro Val Thr Asn Asn Asn

19

1

5

10

15

Asn Ser Asn Gly Ser Phe Arg Ser Tyr Gln Pro Arg Thr Ser Asp Asp
20 25 30

Asp His Arg Arg Arg Ala Thr Thr Ile Ala Pro Pro Pro Lys Ala Ser
35 40 45

Asp Ala Leu Pro Leu Pro Leu Tyr Leu Thr Asn Ala Val Phe Phe Thr
50 55 60

Leu Phe Phe Ser Val Ala Tyr Tyr Leu Leu His Arg Trp Arg Asp Lys
65 70 75 80

Ile Arg Tyr Asn Thr Pro Leu His Val Val Thr Ile Thr Glu Leu Gly
85 90 95

Ala Ile Ile Ala Leu Ile Ala Ser Phe Ile Tyr Leu Leu Gly Phe Phe
100 105 110

Gly Ile Asp Phe Val Gln Ser Phe Ile Ser Arg Ala Ser Gly Asp Ala
115 120 125

Trp Asp Leu Ala Asp Thr Ile Asp Asp Asp His Arg Leu Val Thr
130 135 140

Cys Ser Pro Pro Thr Pro Ile Val Ser Val Ala Lys Leu Pro Asn Pro
145 150 155 160

Glu Pro Ile Val Thr Glu Ser Leu Pro Glu Glu Asp Glu Glu Ile Val
165 170 175

Lys Ser Val Ile Asp Gly Val Ile Pro Ser Tyr Ser Leu Glu Ser Arg
180 185 190

Leu Gly Asp Cys Lys Arg Ala Ala Ser Ile Arg Arg Glu Ala Leu Gln
195 200 205

Arg Val Thr Gly Arg Ser Ile Glu Gly Leu Pro Leu Asp Gly Phe Asp

210

215

220

Tyr Glu Ser Ile Leu Gly Gln Cys Cys Glu Met Pro Val Gly Tyr Ile
225 230 235 240

Gln Ile Pro Val Gly Ile Ala Gly Pro Leu Leu Leu Asp Gly Tyr Glu
245 250 255

Tyr Ser Val Pro Met Ala Thr Thr Glu Gly Cys Leu Val Ala Ser Thr
260 265 270

Asn Arg Gly Cys Lys Ala Met Phe Ile Ser Gly Gly Ala Thr Ser Thr
275 280 285

Val Leu Lys Asp Gly Met Thr Arg Ala Pro Val Val Arg Phe Ala Ser
290 295 300

Ala Arg Arg Ala Ser Glu Leu Lys Phe Phe Leu Glu Asn Pro Glu Asn
305 310 315 320

Phe Asp Thr Leu Ala Val Val Phe Asn Arg Ser Ser Arg Phe Ala Arg
325 330 335

Leu Gln Ser Val Lys Cys Thr Ile Ala Gly Lys Asn Ala Tyr Val Arg
340 345 350

Phe Cys Cys Ser Thr Gly Asp Ala Met Gly Met Asn Met Val Ser Lys
355 360 365

Gly Val Gln Asn Val Leu Glu Tyr Leu Thr Asp Asp Phe Pro Asp Met
370 375 380

Asp Val Ile Gly Ile Ser Gly Asn Phe Cys Ser Asp Lys Lys Pro Ala
385 390 395 400

Ala Val Asn Trp Ile Glu Gly Arg Gly Lys Ser Val Val Cys Glu Ala
405 410 415

Val Ile Arg Gly Glu Ile Val Asn Lys Val Leu Lys Thr Ser Val Ala

420

425

430

Ala Leu Val Glu Leu Asn Met Leu Lys Asn Leu Ala Gly Ser Ala Val
435 440 445

Ala Gly Ser Leu Gly Gly Phe Asn Ala His Ala Ser Asn Ile Val Ser
450 455 460

Ala Val Phe Ile Ala Thr Gly Gln Asp Pro Ala Gln Asn Val Glu Ser
465 470 475 480

Ser Gln Cys Ile Thr Met Met Glu Ala Ile Asn Asp Gly Lys Asp Ile
485 490 495

His Ile Ser Val Thr Met Pro Ser Ile Glu Val Gly Thr Val Gly Gly
500 505 510

Gly Thr Gln Leu Ala Ser Gln Ser Ala Cys Leu Asn Leu Leu Gly Val
515 520 525

Lys Gly Ala Ser Thr Glu Ser Pro Gly Met Asn Ala Arg Arg Leu Ala
530 535 540

Thr Ile Val Ala Gly Ala Val Leu Ala Gly Glu Leu Ser Leu Met Ser
545 550 555 560

Ala Ile Ala Ala Gly Gln Leu Val Arg Ser His Met Lys Tyr Asn Arg
565 570 575

Ser Ser Arg Asp Ile Ser Gly Ala Thr Thr Thr Thr Thr Thr Thr Thr
580 585 590

<210> 9

<211> 1401

<212> DNA

<213> Arabidopsis thaliana ISPH

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(1401)

<223>

<400> 9

```

atg gct gtt gcg ctc caa ttc agc cga tta tgc gtt cga ccg gat act      48
Met Ala Val Ala Leu Gln Phe Ser Arg Leu Cys Val Arg Pro Asp Thr
1          5          10          15

```

ttc gtg cg^g gag aat cat ctc tct gga tcc gga tct ctc cgc cg^c cg^g . . . 96
 Phe Val Arg Glu Asn His Leu Ser Gly Ser Gly Ser Leu Arg Arg Arg
 20 25 30

aaa gct tta tca gtc cg³⁵ tgc tcg tct ggc gat gag aac gct cct tcg
Lys Ala Leu Ser Val Arg Cys Ser Ser Gly Asp Glu Asn Ala Pro Ser
 40 45

cca tcg gtg gtg atg gac tcc gat ttc gac gcc aag gtg ttc cgt aag 192
 Pro Ser Val Val Met Asp Ser Asp Phe Asp Ala Lys Val Phe Arg Lys
 50 55 60

```

aac ttg acg aga agc gat aat tac aat cgt aaa ggg ttc .ggt cat aag 240
Asn Leu Thr Arg Ser Asp Asn Tyr Asn Arg Lys Gly Phe Gly His Lys
65           70                   75                   80

```

gag gag aca ctc aag ctc atg aat cga gag tac acc agt gat ata ttg 288
 Glu Glu Thr Leu Lys Leu Met Asn Arg Glu Tyr Thr Ser Asp Ile Leu
 85 90 95

gag aca ctg aaa aca aat ggg tat act tat tct tgg gga gat gtt act . . . 330
 Glu Thr Leu Lys Thr Asn Gly Tyr Thr Tyr Ser Trp Gly Asp Val Thr
 100 105 110

gtg aaa ctc gct aaa gca tat ggt ttt tgc tgg ggt gtt gag cgt gct 38
Val Lys Leu Ala Lys Ala Tyr Gly Phe Cys Trp Gly Val Glu Arg Ala
115 120 125

gtt cag att gca tat gaa gca cga aag cag ttt cca gag gag agg ctt 43
 Val Gln Ile Ala Tyr Glu Ala Arg Lys Gln Phe Pro Glu Glu Arg Leu
 130 135 140

tgg att act aac gaa atc att cat aac ccg acc gtc aat aag agg ttg 48
Trp Ile Thr Asn Glu Ile Ile His Asn Pro Thr Val Asn Lys Arg Leu
145 150 155 160

gaa gat atg gat gtt aaa att att ccg gtt gag gat tca aag aaa cag	528																																																																																																		
Glu Asp Met Asp Val Lys Ile Ile Pro Val Glu Asp Ser Lys Lys Gln																																																																																																			
165	170	175		ttt gat gta gta gag aaa gat gat gtg gtt atc ctt cct gcg ttt gga	576	Phe Asp Val Val Glu Lys Asp Asp Val Val Ile Leu Pro Ala Phe Gly		180	185	190		gct ggt gtt gac gag atg tat gtt ctt aat gat aaa aag gtg caa att	624	Ala Gly Val Asp Glu Met Tyr Val Leu Asn Asp Lys Val Gln Ile		195	200	205		gtt gac acg act tgt cct tgg gtg aca aag gtc tgg aac acg gtt gag	672	Val Asp Thr Thr Cys Pro Trp Val Thr Lys Val Trp Asn Thr Val Glu		210	215	220		aag cac aag aag ggg gaa tac aca tca gta atc cat ggt aaa tat aat	720	Lys His Lys Lys Gly Glu Tyr Thr Ser Val Ile His Gly Lys Tyr Asn		225	230	235	240	cat gaa gag acg att gca act gcg tct ttt gca gga aag tac atc att	768	His Glu Glu Thr Ile Ala Thr Ala Ser Phe Ala Gly Lys Tyr Ile Ile		245	250	255		gta aag aac atg aaa gag gca aat tac gtt tgt gat tac att ctc ggt	816	Val Lys Asn Met Lys Glu Ala Asn Tyr Val Cys Asp Tyr Ile Leu Gly		260	265	270		ggc caa tac gat gga tct agc tcc aca aaa gag gag ttc atg gag aaa	864	Gly Gln Tyr Asp Gly Ser Ser Thr Lys Glu Glu Phe Met Glu Lys		275	280	285		ttc aaa tac gca att tcg aag ggt ttc gat ccc gac aat gac ctt gtc	912	Phe Lys Tyr Ala Ile Ser Lys Gly Phe Asp Pro Asp Asn Asp Leu Val		290	295	300		aaa gtt ggt att gca aac caa aca acg atg cta aag gga gaa aca gag	960	Lys Val Gly Ile Ala Asn Gln Thr Thr Met Leu Lys Gly Glu Thr Glu		305	310	315	320	gag ata gga aga tta ctc gag aca aca atg atg cgc aag tat gga gtg	1008	Glu Ile Gly Arg Leu Leu Glu Thr Thr Met Met Arg Lys Tyr Gly Val		325	330	335		gaa aat gta agc gga cat ttc atc agc ttc aac aca ata tgc gac gct	1056	Glu Asn Val Ser Gly His Phe Ile Ser Phe Asn Thr Ile Cys Asp Ala		340	345	350		act caa gag cga caa gac gca atc tat gag cta gtg gaa gag aag att	1104	Thr Gln Glu Arg Gln Asp Ala Ile Tyr Glu Leu Val Glu Glu Lys Ile		355	360	365	
175																																																																																																			
ttt gat gta gta gag aaa gat gat gtg gtt atc ctt cct gcg ttt gga	576																																																																																																		
Phe Asp Val Val Glu Lys Asp Asp Val Val Ile Leu Pro Ala Phe Gly																																																																																																			
180	185	190		gct ggt gtt gac gag atg tat gtt ctt aat gat aaa aag gtg caa att	624	Ala Gly Val Asp Glu Met Tyr Val Leu Asn Asp Lys Val Gln Ile		195	200	205		gtt gac acg act tgt cct tgg gtg aca aag gtc tgg aac acg gtt gag	672	Val Asp Thr Thr Cys Pro Trp Val Thr Lys Val Trp Asn Thr Val Glu		210	215	220		aag cac aag aag ggg gaa tac aca tca gta atc cat ggt aaa tat aat	720	Lys His Lys Lys Gly Glu Tyr Thr Ser Val Ile His Gly Lys Tyr Asn		225	230	235	240	cat gaa gag acg att gca act gcg tct ttt gca gga aag tac atc att	768	His Glu Glu Thr Ile Ala Thr Ala Ser Phe Ala Gly Lys Tyr Ile Ile		245	250	255		gta aag aac atg aaa gag gca aat tac gtt tgt gat tac att ctc ggt	816	Val Lys Asn Met Lys Glu Ala Asn Tyr Val Cys Asp Tyr Ile Leu Gly		260	265	270		ggc caa tac gat gga tct agc tcc aca aaa gag gag ttc atg gag aaa	864	Gly Gln Tyr Asp Gly Ser Ser Thr Lys Glu Glu Phe Met Glu Lys		275	280	285		ttc aaa tac gca att tcg aag ggt ttc gat ccc gac aat gac ctt gtc	912	Phe Lys Tyr Ala Ile Ser Lys Gly Phe Asp Pro Asp Asn Asp Leu Val		290	295	300		aaa gtt ggt att gca aac caa aca acg atg cta aag gga gaa aca gag	960	Lys Val Gly Ile Ala Asn Gln Thr Thr Met Leu Lys Gly Glu Thr Glu		305	310	315	320	gag ata gga aga tta ctc gag aca aca atg atg cgc aag tat gga gtg	1008	Glu Ile Gly Arg Leu Leu Glu Thr Thr Met Met Arg Lys Tyr Gly Val		325	330	335		gaa aat gta agc gga cat ttc atc agc ttc aac aca ata tgc gac gct	1056	Glu Asn Val Ser Gly His Phe Ile Ser Phe Asn Thr Ile Cys Asp Ala		340	345	350		act caa gag cga caa gac gca atc tat gag cta gtg gaa gag aag att	1104	Thr Gln Glu Arg Gln Asp Ala Ile Tyr Glu Leu Val Glu Glu Lys Ile		355	360	365									
190																																																																																																			
gct ggt gtt gac gag atg tat gtt ctt aat gat aaa aag gtg caa att	624																																																																																																		
Ala Gly Val Asp Glu Met Tyr Val Leu Asn Asp Lys Val Gln Ile																																																																																																			
195	200	205		gtt gac acg act tgt cct tgg gtg aca aag gtc tgg aac acg gtt gag	672	Val Asp Thr Thr Cys Pro Trp Val Thr Lys Val Trp Asn Thr Val Glu		210	215	220		aag cac aag aag ggg gaa tac aca tca gta atc cat ggt aaa tat aat	720	Lys His Lys Lys Gly Glu Tyr Thr Ser Val Ile His Gly Lys Tyr Asn		225	230	235	240	cat gaa gag acg att gca act gcg tct ttt gca gga aag tac atc att	768	His Glu Glu Thr Ile Ala Thr Ala Ser Phe Ala Gly Lys Tyr Ile Ile		245	250	255		gta aag aac atg aaa gag gca aat tac gtt tgt gat tac att ctc ggt	816	Val Lys Asn Met Lys Glu Ala Asn Tyr Val Cys Asp Tyr Ile Leu Gly		260	265	270		ggc caa tac gat gga tct agc tcc aca aaa gag gag ttc atg gag aaa	864	Gly Gln Tyr Asp Gly Ser Ser Thr Lys Glu Glu Phe Met Glu Lys		275	280	285		ttc aaa tac gca att tcg aag ggt ttc gat ccc gac aat gac ctt gtc	912	Phe Lys Tyr Ala Ile Ser Lys Gly Phe Asp Pro Asp Asn Asp Leu Val		290	295	300		aaa gtt ggt att gca aac caa aca acg atg cta aag gga gaa aca gag	960	Lys Val Gly Ile Ala Asn Gln Thr Thr Met Leu Lys Gly Glu Thr Glu		305	310	315	320	gag ata gga aga tta ctc gag aca aca atg atg cgc aag tat gga gtg	1008	Glu Ile Gly Arg Leu Leu Glu Thr Thr Met Met Arg Lys Tyr Gly Val		325	330	335		gaa aat gta agc gga cat ttc atc agc ttc aac aca ata tgc gac gct	1056	Glu Asn Val Ser Gly His Phe Ile Ser Phe Asn Thr Ile Cys Asp Ala		340	345	350		act caa gag cga caa gac gca atc tat gag cta gtg gaa gag aag att	1104	Thr Gln Glu Arg Gln Asp Ala Ile Tyr Glu Leu Val Glu Glu Lys Ile		355	360	365																	
205																																																																																																			
gtt gac acg act tgt cct tgg gtg aca aag gtc tgg aac acg gtt gag	672																																																																																																		
Val Asp Thr Thr Cys Pro Trp Val Thr Lys Val Trp Asn Thr Val Glu																																																																																																			
210	215	220		aag cac aag aag ggg gaa tac aca tca gta atc cat ggt aaa tat aat	720	Lys His Lys Lys Gly Glu Tyr Thr Ser Val Ile His Gly Lys Tyr Asn		225	230	235	240	cat gaa gag acg att gca act gcg tct ttt gca gga aag tac atc att	768	His Glu Glu Thr Ile Ala Thr Ala Ser Phe Ala Gly Lys Tyr Ile Ile		245	250	255		gta aag aac atg aaa gag gca aat tac gtt tgt gat tac att ctc ggt	816	Val Lys Asn Met Lys Glu Ala Asn Tyr Val Cys Asp Tyr Ile Leu Gly		260	265	270		ggc caa tac gat gga tct agc tcc aca aaa gag gag ttc atg gag aaa	864	Gly Gln Tyr Asp Gly Ser Ser Thr Lys Glu Glu Phe Met Glu Lys		275	280	285		ttc aaa tac gca att tcg aag ggt ttc gat ccc gac aat gac ctt gtc	912	Phe Lys Tyr Ala Ile Ser Lys Gly Phe Asp Pro Asp Asn Asp Leu Val		290	295	300		aaa gtt ggt att gca aac caa aca acg atg cta aag gga gaa aca gag	960	Lys Val Gly Ile Ala Asn Gln Thr Thr Met Leu Lys Gly Glu Thr Glu		305	310	315	320	gag ata gga aga tta ctc gag aca aca atg atg cgc aag tat gga gtg	1008	Glu Ile Gly Arg Leu Leu Glu Thr Thr Met Met Arg Lys Tyr Gly Val		325	330	335		gaa aat gta agc gga cat ttc atc agc ttc aac aca ata tgc gac gct	1056	Glu Asn Val Ser Gly His Phe Ile Ser Phe Asn Thr Ile Cys Asp Ala		340	345	350		act caa gag cga caa gac gca atc tat gag cta gtg gaa gag aag att	1104	Thr Gln Glu Arg Gln Asp Ala Ile Tyr Glu Leu Val Glu Glu Lys Ile		355	360	365																									
220																																																																																																			
aag cac aag aag ggg gaa tac aca tca gta atc cat ggt aaa tat aat	720																																																																																																		
Lys His Lys Lys Gly Glu Tyr Thr Ser Val Ile His Gly Lys Tyr Asn																																																																																																			
225	230	235	240	cat gaa gag acg att gca act gcg tct ttt gca gga aag tac atc att	768	His Glu Glu Thr Ile Ala Thr Ala Ser Phe Ala Gly Lys Tyr Ile Ile		245	250	255		gta aag aac atg aaa gag gca aat tac gtt tgt gat tac att ctc ggt	816	Val Lys Asn Met Lys Glu Ala Asn Tyr Val Cys Asp Tyr Ile Leu Gly		260	265	270		ggc caa tac gat gga tct agc tcc aca aaa gag gag ttc atg gag aaa	864	Gly Gln Tyr Asp Gly Ser Ser Thr Lys Glu Glu Phe Met Glu Lys		275	280	285		ttc aaa tac gca att tcg aag ggt ttc gat ccc gac aat gac ctt gtc	912	Phe Lys Tyr Ala Ile Ser Lys Gly Phe Asp Pro Asp Asn Asp Leu Val		290	295	300		aaa gtt ggt att gca aac caa aca acg atg cta aag gga gaa aca gag	960	Lys Val Gly Ile Ala Asn Gln Thr Thr Met Leu Lys Gly Glu Thr Glu		305	310	315	320	gag ata gga aga tta ctc gag aca aca atg atg cgc aag tat gga gtg	1008	Glu Ile Gly Arg Leu Leu Glu Thr Thr Met Met Arg Lys Tyr Gly Val		325	330	335		gaa aat gta agc gga cat ttc atc agc ttc aac aca ata tgc gac gct	1056	Glu Asn Val Ser Gly His Phe Ile Ser Phe Asn Thr Ile Cys Asp Ala		340	345	350		act caa gag cga caa gac gca atc tat gag cta gtg gaa gag aag att	1104	Thr Gln Glu Arg Gln Asp Ala Ile Tyr Glu Leu Val Glu Glu Lys Ile		355	360	365																																	
235	240																																																																																																		
cat gaa gag acg att gca act gcg tct ttt gca gga aag tac atc att	768																																																																																																		
His Glu Glu Thr Ile Ala Thr Ala Ser Phe Ala Gly Lys Tyr Ile Ile																																																																																																			
245	250	255		gta aag aac atg aaa gag gca aat tac gtt tgt gat tac att ctc ggt	816	Val Lys Asn Met Lys Glu Ala Asn Tyr Val Cys Asp Tyr Ile Leu Gly		260	265	270		ggc caa tac gat gga tct agc tcc aca aaa gag gag ttc atg gag aaa	864	Gly Gln Tyr Asp Gly Ser Ser Thr Lys Glu Glu Phe Met Glu Lys		275	280	285		ttc aaa tac gca att tcg aag ggt ttc gat ccc gac aat gac ctt gtc	912	Phe Lys Tyr Ala Ile Ser Lys Gly Phe Asp Pro Asp Asn Asp Leu Val		290	295	300		aaa gtt ggt att gca aac caa aca acg atg cta aag gga gaa aca gag	960	Lys Val Gly Ile Ala Asn Gln Thr Thr Met Leu Lys Gly Glu Thr Glu		305	310	315	320	gag ata gga aga tta ctc gag aca aca atg atg cgc aag tat gga gtg	1008	Glu Ile Gly Arg Leu Leu Glu Thr Thr Met Met Arg Lys Tyr Gly Val		325	330	335		gaa aat gta agc gga cat ttc atc agc ttc aac aca ata tgc gac gct	1056	Glu Asn Val Ser Gly His Phe Ile Ser Phe Asn Thr Ile Cys Asp Ala		340	345	350		act caa gag cga caa gac gca atc tat gag cta gtg gaa gag aag att	1104	Thr Gln Glu Arg Gln Asp Ala Ile Tyr Glu Leu Val Glu Glu Lys Ile		355	360	365																																									
255																																																																																																			
gta aag aac atg aaa gag gca aat tac gtt tgt gat tac att ctc ggt	816																																																																																																		
Val Lys Asn Met Lys Glu Ala Asn Tyr Val Cys Asp Tyr Ile Leu Gly																																																																																																			
260	265	270		ggc caa tac gat gga tct agc tcc aca aaa gag gag ttc atg gag aaa	864	Gly Gln Tyr Asp Gly Ser Ser Thr Lys Glu Glu Phe Met Glu Lys		275	280	285		ttc aaa tac gca att tcg aag ggt ttc gat ccc gac aat gac ctt gtc	912	Phe Lys Tyr Ala Ile Ser Lys Gly Phe Asp Pro Asp Asn Asp Leu Val		290	295	300		aaa gtt ggt att gca aac caa aca acg atg cta aag gga gaa aca gag	960	Lys Val Gly Ile Ala Asn Gln Thr Thr Met Leu Lys Gly Glu Thr Glu		305	310	315	320	gag ata gga aga tta ctc gag aca aca atg atg cgc aag tat gga gtg	1008	Glu Ile Gly Arg Leu Leu Glu Thr Thr Met Met Arg Lys Tyr Gly Val		325	330	335		gaa aat gta agc gga cat ttc atc agc ttc aac aca ata tgc gac gct	1056	Glu Asn Val Ser Gly His Phe Ile Ser Phe Asn Thr Ile Cys Asp Ala		340	345	350		act caa gag cga caa gac gca atc tat gag cta gtg gaa gag aag att	1104	Thr Gln Glu Arg Gln Asp Ala Ile Tyr Glu Leu Val Glu Glu Lys Ile		355	360	365																																																	
270																																																																																																			
ggc caa tac gat gga tct agc tcc aca aaa gag gag ttc atg gag aaa	864																																																																																																		
Gly Gln Tyr Asp Gly Ser Ser Thr Lys Glu Glu Phe Met Glu Lys																																																																																																			
275	280	285		ttc aaa tac gca att tcg aag ggt ttc gat ccc gac aat gac ctt gtc	912	Phe Lys Tyr Ala Ile Ser Lys Gly Phe Asp Pro Asp Asn Asp Leu Val		290	295	300		aaa gtt ggt att gca aac caa aca acg atg cta aag gga gaa aca gag	960	Lys Val Gly Ile Ala Asn Gln Thr Thr Met Leu Lys Gly Glu Thr Glu		305	310	315	320	gag ata gga aga tta ctc gag aca aca atg atg cgc aag tat gga gtg	1008	Glu Ile Gly Arg Leu Leu Glu Thr Thr Met Met Arg Lys Tyr Gly Val		325	330	335		gaa aat gta agc gga cat ttc atc agc ttc aac aca ata tgc gac gct	1056	Glu Asn Val Ser Gly His Phe Ile Ser Phe Asn Thr Ile Cys Asp Ala		340	345	350		act caa gag cga caa gac gca atc tat gag cta gtg gaa gag aag att	1104	Thr Gln Glu Arg Gln Asp Ala Ile Tyr Glu Leu Val Glu Glu Lys Ile		355	360	365																																																									
285																																																																																																			
ttc aaa tac gca att tcg aag ggt ttc gat ccc gac aat gac ctt gtc	912																																																																																																		
Phe Lys Tyr Ala Ile Ser Lys Gly Phe Asp Pro Asp Asn Asp Leu Val																																																																																																			
290	295	300		aaa gtt ggt att gca aac caa aca acg atg cta aag gga gaa aca gag	960	Lys Val Gly Ile Ala Asn Gln Thr Thr Met Leu Lys Gly Glu Thr Glu		305	310	315	320	gag ata gga aga tta ctc gag aca aca atg atg cgc aag tat gga gtg	1008	Glu Ile Gly Arg Leu Leu Glu Thr Thr Met Met Arg Lys Tyr Gly Val		325	330	335		gaa aat gta agc gga cat ttc atc agc ttc aac aca ata tgc gac gct	1056	Glu Asn Val Ser Gly His Phe Ile Ser Phe Asn Thr Ile Cys Asp Ala		340	345	350		act caa gag cga caa gac gca atc tat gag cta gtg gaa gag aag att	1104	Thr Gln Glu Arg Gln Asp Ala Ile Tyr Glu Leu Val Glu Glu Lys Ile		355	360	365																																																																	
300																																																																																																			
aaa gtt ggt att gca aac caa aca acg atg cta aag gga gaa aca gag	960																																																																																																		
Lys Val Gly Ile Ala Asn Gln Thr Thr Met Leu Lys Gly Glu Thr Glu																																																																																																			
305	310	315	320	gag ata gga aga tta ctc gag aca aca atg atg cgc aag tat gga gtg	1008	Glu Ile Gly Arg Leu Leu Glu Thr Thr Met Met Arg Lys Tyr Gly Val		325	330	335		gaa aat gta agc gga cat ttc atc agc ttc aac aca ata tgc gac gct	1056	Glu Asn Val Ser Gly His Phe Ile Ser Phe Asn Thr Ile Cys Asp Ala		340	345	350		act caa gag cga caa gac gca atc tat gag cta gtg gaa gag aag att	1104	Thr Gln Glu Arg Gln Asp Ala Ile Tyr Glu Leu Val Glu Glu Lys Ile		355	360	365																																																																									
315	320																																																																																																		
gag ata gga aga tta ctc gag aca aca atg atg cgc aag tat gga gtg	1008																																																																																																		
Glu Ile Gly Arg Leu Leu Glu Thr Thr Met Met Arg Lys Tyr Gly Val																																																																																																			
325	330	335		gaa aat gta agc gga cat ttc atc agc ttc aac aca ata tgc gac gct	1056	Glu Asn Val Ser Gly His Phe Ile Ser Phe Asn Thr Ile Cys Asp Ala		340	345	350		act caa gag cga caa gac gca atc tat gag cta gtg gaa gag aag att	1104	Thr Gln Glu Arg Gln Asp Ala Ile Tyr Glu Leu Val Glu Glu Lys Ile		355	360	365																																																																																	
335																																																																																																			
gaa aat gta agc gga cat ttc atc agc ttc aac aca ata tgc gac gct	1056																																																																																																		
Glu Asn Val Ser Gly His Phe Ile Ser Phe Asn Thr Ile Cys Asp Ala																																																																																																			
340	345	350		act caa gag cga caa gac gca atc tat gag cta gtg gaa gag aag att	1104	Thr Gln Glu Arg Gln Asp Ala Ile Tyr Glu Leu Val Glu Glu Lys Ile		355	360	365																																																																																									
350																																																																																																			
act caa gag cga caa gac gca atc tat gag cta gtg gaa gag aag att	1104																																																																																																		
Thr Gln Glu Arg Gln Asp Ala Ile Tyr Glu Leu Val Glu Glu Lys Ile																																																																																																			
355	360	365																																																																																																	
365																																																																																																			

gac ctc atg cta gtg gtt ggc gga tgg aat tca agt aac acc tct cac		1152	
Asp Leu Met Leu Val Val Gly Gly Trp Asn Ser Ser Asn Thr Ser His			
370	375	380	
ctt cag gaa atc tca gag gca cg ^g gga atc cca tct tac tgg atc gat		1200	
Leu Gln Glu Ile Ser Glu Ala Arg Gly Ile Pro Ser Tyr Trp Ile Asp			
385	390	395	400
agt gag aaa cg ^g ata gga cct ggg aat aaa ata gcc tat aag ctc cac		1248	
Ser Glu Lys Arg Ile Gly Pro Gly Asn Lys Ile Ala Tyr Lys Leu His			
405	410	415	
tat gga gaa ctg gtc gag aag gaa aac ttt ctc cca aag gga cca ata		1296	
Tyr Gly Glu Leu Val Glu Lys Glu Asn Phe Leu Pro Lys Gly Pro Ile			
420	425	430	
aca atc ggt gtg aca tca ggt gca tca acc ccg gat aag gtc gtg gaa		1344	
Thr Ile Gly Val Thr Ser Gly Ala Ser Thr Pro Asp Lys Val Val Glu			
435	440	445	
gat gct ttg gtg aag gtg ttc gac att aaa cgt gaa gag tta ttg cag		1392	
Asp Ala Leu Val Lys Val Phe Asp Ile Lys Arg Glu Glu Leu Leu Gln			
450	455	460	
ctg gct tga		1401	
Leu Ala			
465			
<210> 10			
<211> 466			
<212> PRT			
<213> Arabidopsis thaliana ISPH			
<400> 10			
Met Ala Val Ala Leu Gln Phe Ser Arg Leu Cys Val Arg Pro Asp Thr			
1	5	10	15
Phe Val Arg Glu Asn His Leu Ser Gly Ser Gly Ser Leu Arg Arg Arg			
20	25	30	
Lys Ala Leu Ser Val Arg Cys Ser Ser Gly Asp Glu Asn Ala Pro Ser			
35	40	45	

Pro Ser Val Val Met Asp Ser Asp Phe Asp Ala Lys Val Phe Arg Lys
50 55 60

Asn Leu Thr Arg Ser Asp Asn Tyr Asn Arg Lys Gly Phe Gly His Lys
65 70 75 80

Glu Glu Thr Leu Lys Leu Met Asn Arg Glu Tyr Thr Ser Asp Ile Leu
85 90 95

Glu Thr Leu Lys Thr Asn Gly Tyr Thr Tyr Ser Trp Gly Asp Val Thr
100 105 110

Val Lys Leu Ala Lys Ala Tyr Gly Phe Cys Trp Gly Val Glu Arg Ala
115 120 125

Val Gln Ile Ala Tyr Glu Ala Arg Lys Gln Phe Pro Glu Glu Arg Leu
130 135 140

Trp Ile Thr Asn Glu Ile Ile His Asn Pro Thr Val Asn Lys Arg Leu
145 150 155 160

Glu Asp Met Asp Val Lys Ile Ile Pro Val Glu Asp Ser Lys Lys Gln
165 170 175

Phe Asp Val Val Glu Lys Asp Asp Val Val Ile Leu Pro Ala Phe Gly
180 185 190

Ala Gly Val Asp Glu Met Tyr Val Leu Asn Asp Lys Lys Val Gln Ile
195 200 205

Val Asp Thr Thr Cys Pro Trp Val Thr Lys Val Trp Asn Thr Val Glu
210 215 220

Lys His Lys Lys Gly Glu Tyr Thr Ser Val Ile His Gly Lys Tyr Asn
225 230 235 240

His Glu Glu Thr Ile Ala Thr Ala Ser Phe Ala Gly Lys Tyr Ile Ile
245 250 255

Val Lys Asn Met Lys Glu Ala Asn Tyr Val Cys Asp Tyr Ile Leu Gly
260 265 270

Gly Gln Tyr Asp Gly Ser Ser Thr Lys Glu Glu Phe Met Glu Lys
275 280 285

Phe Lys Tyr Ala Ile Ser Lys Gly Phe Asp Pro Asp Asn Asp Leu Val
290 295 300

Lys Val Gly Ile Ala Asn Gln Thr Thr Met Leu Lys Gly Glu Thr Glu
305 310 315 320

Glu Ile Gly Arg Leu Leu Glu Thr Thr Met Met Arg Lys Tyr Gly Val
325 330 335

Glu Asn Val Ser Gly His Phe Ile Ser Phe Asn Thr Ile Cys Asp Ala
340 345 350

Thr Gln Glu Arg Gln Asp Ala Ile Tyr Glu Leu Val Glu Glu Lys Ile
355 360 365

Asp Leu Met Leu Val Val Gly Gly Trp Asn Ser Ser Asn Thr Ser His
370 375 380

Leu Gln Glu Ile Ser Glu Ala Arg Gly Ile Pro Ser Tyr Trp Ile Asp
385 390 395 400

Ser Glu Lys Arg Ile Gly Pro Gly Asn Lys Ile Ala Tyr Lys Leu His
405 410 415

Tyr Gly Glu Leu Val Glu Lys Glu Asn Phe Leu Pro Lys Gly Pro Ile
420 425 430

Thr Ile Gly Val Thr Ser Gly Ala Ser Thr Pro Asp Lys Val Val Glu
435 440 445

Asp Ala Leu Val Lys Val Phe Asp Ile Lys Arg Glu Glu Leu Leu Gln
450 455 460

Leu Ala
465

<210> 11

<211> 2160

<212> DNA

<213> Lycopersicon esculentum

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(2160)

<223>

<400> 11		
atg gct ttg tgt gct tat gca ttt cct ggg att ttg aac agg act ggt		48
Met Ala Leu Cys Ala Tyr Ala Phe Pro Gly Ile Leu Asn Arg Thr Gly		
1 5 10 15		
gtg gtt tca gat tct tct aag gca acc cct ttg ttc tct gga tgg att		96
Val Val Ser Asp Ser Ser Lys Ala Thr Pro Leu Phe Ser Gly Trp Ile		
20 25 30		
cat gga aca gat ctg cag ttt ttg ttc caa cac aag ctt act cat gag		144
His Gly Thr Asp Leu Gln Phe Leu Phe Gln His Lys Leu Thr His Glu		
35 40 45		
gtc aag aaa agg tca cgt gtg gtt cag gct tcc tta tca gaa tct gga		192
Val Lys Lys Arg Ser Arg Val Val Gln Ala Ser Leu Ser Glu Ser Gly		
50 55 60		
gaa tac tac aca cag aga ccg cca acg cct att ttg gac act gtg aac		240
Glu Tyr Tyr Thr Gln Arg Pro Pro Thr Pro Ile Leu Asp Thr Val Asn		
65 70 75 80		
tat ccc att cat atg aaa aat ctg tct ctg aag gaa ctt aaa caa cta		288
Tyr Pro Ile His Met Lys Asn Leu Ser Leu Lys Glu Leu Lys Gln Leu		
85 90 95		
gca gat gaa cta agg tca gat aca att ttc aat gta tca aag act ggg		336

Ala Asp Glu Leu Arg Ser Asp Thr Ile Phe Asn Val Ser Lys Thr Gly			
100	105	110	
ggt cac ctt ggc tca agt ctt ggt gtt gag ctg act gtt gct ctt			384
Gly His Leu Gly Ser Ser Leu Gly Val Val Glu Leu Thr Val Ala Leu			
115	120	125	
cat tat gtc ttc aat gca ccg caa gat agg att ctc tgg gat gtt ggt			432
His Tyr Val Phe Asn Ala Pro Gln Asp Arg Ile Leu Trp Asp Val Gly			
130	135	140	
cat cag tct tat cct cac aaa atc ttg act ggt aga agg gac aag atg			480
His Gln Ser Tyr Pro His Lys Ile Leu Thr Gly Arg Arg Asp Lys Met			
145	150	155	160
tcg aca tta agg cag aca gat ggt ctt gca gga ttt act aag cga tcg			528
Ser Thr Leu Arg Gln Thr Asp Gly Leu Ala Gly Phe Thr Lys Arg Ser			
165	170	175	
gag agt gaa tat gat tgc ttt ggc acc ggc cac agt tcc acc acc atc			576
Glu Ser Glu Tyr Asp Cys Phe Gly Thr Gly His Ser Ser Thr Thr Ile			
180	185	190	
tca gca ggc cta ggg atg gct gtt ggt aga gat cta aaa gga aga aac			624
Ser Ala Gly Leu Gly Met Ala Val Gly Arg Asp Leu Lys Gly Arg Asn			
195	200	205	
aac aat gtt att gcc gta ata ggt gat ggt gcc atg aca gca ggt caa			672
Asn Asn Val Ile Ala Val Ile Gly Asp Gly Ala Met Thr Ala Gly Gln			
210	215	220	
gct tat gaa gcc atg aat aat gct ggt tac ctg gac tct gac atg att			720
Ala Tyr Glu Ala Met Asn Asn Ala Gly Tyr Leu Asp Ser Asp Met Ile			
225	230	235	240
gtt atc tta aac gac aat aga caa gtt tct tta cct act gct act ctg			768
Val Ile Leu Asn Asp Asn Arg Gln Val Ser Leu Pro Thr Ala Thr Leu			
245	250	255	
gat ggg cca gtt gct cct gtt gga gct cta agt agt gct ttg agc agg			816
Asp Gly Pro Val Ala Pro Val Gly Ala Leu Ser Ser Ala Leu Ser Arg			
260	265	270	
tta cag tct aat agg cct ctc aga gaa cta aga gaa gtc gca aag gga			864
Leu Gln Ser Asn Arg Pro Leu Arg Glu Leu Arg Glu Val Ala Lys Gly			
275	280	285	
gtt act aag cag att ggt cct atg cat gag ctt gct gca aaa gtt			912
Val Thr Lys Gln Ile Gly Gly Pro Met His Glu Leu Ala Ala Lys Val			
290	295	300	
gat gaa tat gct cgt ggc atg att agt ggt tct gga tca aca ttg ttt			960

Asp Glu Tyr Ala Arg Gly Met Ile Ser Gly Ser Gly Ser Thr Leu Phe				
305	310	315	320	
gaa gaa ctt gga ctt tac tat att ggt cct gtg gat ggt cac aac att				1008
Glu Glu Leu Gly Leu Tyr Tyr Ile Gly Pro Val Asp Gly His Asn Ile				
325	330	335		
gat gat cta att gcg att ctc aaa gag gtt aga agt act aaa aca aca				1056
Asp Asp Leu Ile Ala Ile Leu Lys Glu Val Arg Ser Thr Lys Thr				
340	345	350		
ggt cca gta ctg atc cat gtt gtc act gag aaa ggc aga ggt tat cca				1104
Gly Pro Val Leu Ile His Val Val Thr Glu Lys Gly Arg Gly Tyr Pro				
355	360	365		
tat gct gag aga gct gca gat aag tat cat gga gtt gcc aag ttt gat				1152
Tyr Ala Glu Arg Ala Ala Asp Lys Tyr His Gly Val Ala Lys Phe Asp				
370	375	380		
cca gca aca gga aagcaa ttc aaa gcc agt gcc aag aca cag tcc tat				1200
Pro Ala Thr Gly Lys Gln Phe Lys Ala Ser Ala Lys Thr Gln Ser Tyr				
385	390	395	400	
aca aca tat ttt gcc gag gct tta att gca gaa gca gaa gca gat aaa				1248
Thr Thr Tyr Phe Ala Glu Ala Leu Ile Ala Glu Ala Glu Ala Asp Lys				
405	410	415		
gac att gtt gca atc cat gct gcc atg ggg ggt ggg acc gga atg aac				1296
Asp Ile Val Ala Ile His Ala Ala Met Gly Gly Thr Gly Met Asn				
420	425	430		
ctt ttc cat cgt cgc ttc cca aca agg tgt ttt gat gtt gga ata gca				1344
Leu Phe His Arg Arg Phe Pro Thr Arg Cys Phe Asp Val Gly Ile Ala				
435	440	445		
gaa caa cat gca gta acc ttt gct gct gga ttg gct tgt gaa ggc att				1392
Glu Gln His Ala Val Thr Phe Ala Ala Gly Leu Ala Cys Glu Gly Ile				
450	455	460		
aaa cct ttc tgt gca atc tat tcg tct ttc atg cag agg gct tat gac				1440
Lys Pro Phe Cys Ala Ile Tyr Ser Ser Phe Met Gln Arg Ala Tyr Asp				
465	470	475	480	
cag gta gtg cat gac gtt gat ttg caa aag ctg ccc gtg agg ttt gca				1488
Gln Val Val His Asp Val Asp Leu Gln Lys Leu Pro Val Arg Phe Ala				
485	490	495		
atg gac aga gca ggt ctt gtt gga gca gat ggt cca aca cat tgt ggt				1536
Met Asp Arg Ala Gly Leu Val Gly Ala Asp Gly Pro Thr His Cys Gly				
500	505	510		
gca ttt gat gtt act tac atg gca tgt ctt cct aac atg gtt gta atg				1584

Ala Phe Asp Val Thr Tyr Met Ala Cys Leu Pro Asn Met Val Val Met			
515	520	525	
gct cct tct gat gaa gca gag cta ttt cac atg gta gca act gct gcc 1632			
Ala Pro Ser Asp Glu Ala Glu Leu Phe His Met Val Ala Thr Ala Ala			
530	535	540	
gcc att gat gac aga cca agt tgt ttt aga tac cca aga gga aat ggg 1680			
Ala Ile Asp Asp Arg Pro Ser Cys Phe Arg Tyr Pro Arg Gly Asn Gly			
545	550	555	560
atc ggt gta gag ctt ccg gct gga aac aaa gga att cct ctt gag gtt 1728			
Ile Gly Val Glu Leu Pro Ala Gly Asn Lys Gly Ile Pro Leu Glu Val			
565	570	575	
ggg aaa ggt agg ata ttg att gag ggg gag aga gtg gct cta ttg gga 1776			
Gly Lys Gly Arg Ile Leu Ile Glu Gly Glu Arg Val Ala Leu Leu Gly			
580	585	590	
tat ggc tca gca gtg cag aac tgt ttg gat gct gct att gtg cta gaa 1824			
Tyr Gly Ser Ala Val Gln Asn Cys Leu Asp Ala Ala Ile Val Leu Glu			
595	600	605	
tcc cgc ggc tta caa gta aca gtt gca gat gca cgt ttc tgc aaa cca 1872			
Ser Arg Gly Leu Gln Val Thr Val Ala Asp Ala Arg Phe Cys Lys Pro			
610	615	620	
ctg gac cat gcc ctc ata agg agc ctt gca aaa tca cat gaa gtg cta 1920			
Leu Asp His Ala Leu Ile Arg Ser Leu Ala Lys Ser His Glu Val Leu			
625	630	635	640
atc act gtc gaa gaa gga tca att gga ggt ttt gga tct cat gtt gtt 1968			
Ile Thr Val Glu Glu Gly Ser Ile Gly Gly Phe Gly Ser His Val Val			
645	650	655	
cag ttc atg gcc tta gat ggg ctt ctt gat ggc aag ttg aag tgg aga 2016			
Gln Phe Met Ala Leu Asp Gly Leu Leu Asp Gly Lys Leu Lys Trp Arg			
660	665	670	
cca ata gtt ctt cct gat cga tac att gac cat gga tct cct gtt gat 2064			
Pro Ile Val Leu Pro Asp Arg Tyr Ile Asp His Gly Ser Pro Val Asp			
675	680	685	
cag ttg gcg gaa gct ggc cta aca cca tct cac att gca gca aca gta 2112			
Gln Leu Ala Glu Ala Gly Leu Thr Pro Ser His Ile Ala Ala Thr Val			
690	695	700	
ttt aac ata ctt gga caa acc aga gag gct cta gag gtc atg aca taa 2160			
Phe Asn Ile Leu Gly Gln Thr Arg Glu Ala Leu Glu Val Met Thr			
705	710	715	

<210> 12

<211> 719

<212> PRT

<213> Lycopersicon esculentum

<400> 12

Met Ala Leu Cys Ala Tyr Ala Phe Pro Gly Ile Leu Asn Arg Thr Gly
1 5 10 15

Val Val Ser Asp Ser Ser Lys Ala Thr Pro Leu Phe Ser Gly Trp Ile
20 25 30

His Gly Thr Asp Leu Gln Phe Leu Phe Gln His Lys Leu Thr His Glu
35 40 45

Val Lys Lys Arg Ser Arg Val Val Gln Ala Ser Leu Ser Glu Ser Gly
50 55 60

Glu Tyr Tyr Thr Gln Arg Pro Pro Thr Pro Ile Leu Asp Thr Val Asn
65 70 75 80

Tyr Pro Ile His Met Lys Asn Leu Ser Leu Lys Glu Leu Lys Gln Leu
85 90 95

Ala Asp Glu Leu Arg Ser Asp Thr Ile Phe Asn Val Ser Lys Thr Gly
100 105 110

Gly His Leu Gly Ser Ser Leu Gly Val Val Glu Leu Thr Val Ala Leu
115 120 125

His Tyr Val Phe Asn Ala Pro Gln Asp Arg Ile Leu Trp Asp Val Gly
130 135 140

His Gln Ser Tyr Pro His Lys Ile Leu Thr Gly Arg Arg Asp Lys Met
145 150 155 160

Ser Thr Leu Arg Gln Thr Asp Gly Leu Ala Gly Phe Thr Lys Arg Ser
165 170 175

Glu Ser Glu Tyr Asp Cys Phe Gly Thr Gly His Ser Ser Thr Thr Ile
180 185 190

Ser Ala Gly Leu Gly Met Ala Val Gly Arg Asp Leu Lys Gly Arg Asn
195 200 205

Asn Asn Val Ile Ala Val Ile Gly Asp Gly Ala Met Thr Ala Gly Gln
210 215 220

Ala Tyr Glu Ala Met Asn Asn Ala Gly Tyr Leu Asp Ser Asp Met Ile
225 230 235 240

Val Ile Leu Asn Asp Asn Arg Gln Val Ser Leu Pro Thr Ala Thr Leu
245 250 255

Asp Gly Pro Val Ala Pro Val Gly Ala Leu Ser Ser Ala Leu Ser Arg
260 265 270

Leu Gln Ser Asn Arg Pro Leu Arg Glu Leu Arg Glu Val Ala Lys Gly
275 280 285

Val Thr Lys Gln Ile Gly Gly Pro Met His Glu Leu Ala Ala Lys Val
290 295 300

Asp Glu Tyr Ala Arg Gly Met Ile Ser Gly Ser Gly Ser Thr Leu Phe
305 310 315 320

Glu Glu Leu Gly Leu Tyr Tyr Ile Gly Pro Val Asp Gly His Asn Ile
325 330 335

Asp Asp Leu Ile Ala Ile Leu Lys Glu Val Arg Ser Thr Lys Thr Thr
340 345 350

Gly Pro Val Leu Ile His Val Val Thr Glu Lys Gly Arg Gly Tyr Pro
355 360 365

Tyr Ala Glu Arg Ala Ala Asp Lys Tyr His Gly Val Ala Lys Phe Asp
370 375 380

Pro Ala Thr Gly Lys Gln Phe Lys Ala Ser Ala Lys Thr Gln Ser Tyr
385 390 395 400

Thr Thr Tyr Phe Ala Glu Ala Leu Ile Ala Glu Ala Asp Lys
405 410 415

Asp Ile Val Ala Ile His Ala Ala Met Gly Gly Thr Gly Met Asn
420 425 430

Leu Phe His Arg Arg Phe Pro Thr Arg Cys Phe Asp Val Gly Ile Ala
435 440 445

Glu Gln His Ala Val Thr Phe Ala Ala Gly Leu Ala Cys Glu Gly Ile
450 455 460

Lys Pro Phe Cys Ala Ile Tyr Ser Ser Phe Met Gln Arg Ala Tyr Asp
465 470 475 480

Gln Val Val His Asp Val Asp Leu Gln Lys Leu Pro Val Arg Phe Ala
485 490 495

Met Asp Arg Ala Gly Leu Val Gly Ala Asp Gly Pro Thr His Cys Gly
500 505 510

Ala Phe Asp Val Thr Tyr Met Ala Cys Leu Pro Asn Met Val Val Met
515 520 525

Ala Pro Ser Asp Glu Ala Glu Leu Phe His Met Val Ala Thr Ala Ala
530 535 540

Ala Ile Asp Asp Arg Pro Ser Cys Phe Arg Tyr Pro Arg Gly Asn Gly
545 550 555 560

Ile Gly Val Glu Leu Pro Ala Gly Asn Lys Gly Ile Pro Leu Glu Val
565 570 575

Gly Lys Gly Arg Ile Leu Ile Glu Gly Glu Arg Val Ala Leu Leu Gly
580 585 590

Tyr Gly Ser Ala Val Gln Asn Cys Leu Asp Ala Ala Ile Val Leu Glu
595 600 605

Ser Arg Gly Leu Gln Val Thr Val Ala Asp Ala Arg Phe Cys Lys Pro
610 615 620

Leu Asp His Ala Leu Ile Arg Ser Leu Ala Lys Ser His Glu Val Leu
625 630 635 640

Ile Thr Val Glu Glu Gly Ser Ile Gly Gly Phe Gly Ser His Val Val
645 650 655

Gln Phe Met Ala Leu Asp Gly Leu Leu Asp Gly Lys Leu Lys Trp Arg
660 665 670

Pro Ile Val Leu Pro Asp Arg Tyr Ile Asp His Gly Ser Pro Val Asp
675 680 685

Gln Leu Ala Glu Ala Gly Leu Thr Pro Ser His Ile Ala Ala Thr Val
690 695 700

Phe Asn Ile Leu Gly Gln Thr Arg Glu Ala Leu Glu Val Met Thr
705 710 715

<210> 13

<211> 1434

<212> DNA

<213> *Arabidopsis thaliana*

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(1434)

<223>

<400> 13
 atg atg aca tta aac tca cta tct cca gct gaa tcc aaa gct att tct 48
 Met Met Thr Leu Asn Ser Leu Ser Pro Ala Glu Ser Lys Ala Ile Ser
 1 5 10 15

 ttc ttg gat acc tcc agg ttc aat cca atc cct aaa ctc tca ggt ggg 96
 Phe Leu Asp Thr Ser Arg Phe Asn Pro Ile Pro Lys Leu Ser Gly Gly
 20 25 30

 ttt agt ttg agg agg aat caa ggg aga ggt ttt gga aaa ggt gtt 144
 Phe Ser Leu Arg Arg Asn Gln Gly Arg Gly Phe Gly Lys Gly Val
 35 40 45

 aag tgt tca gtg aaa gtg cag cag caa caa cct cct cca gca tgg 192
 Lys Cys Ser Val Lys Val Gln Gln Gln Gln Pro Pro Pro Ala Trp
 50 55 60

 cct ggg aga gct gtc cct gag gcg cct cgt caa tct tgg gat gga cca 240
 Pro Gly Arg Ala Val Pro Glu Ala Pro Arg Gln Ser Trp Asp Gly Pro
 65 70 75 80

 aaa ccc atc tct atc gtt gga tct act ggt tct att ggc act cag aca 288
 Lys Pro Ile Ser Ile Val Gly Ser Thr Gly Ser Ile Gly Thr Gln Thr
 85 90 95

 ttg gat att gtg gct gag aat cct gac aaa ttc aga gtt gtg gct cta 336
 Leu Asp Ile Val Ala Glu Asn Pro Asp Lys Phe Arg Val Val Ala Leu
 100 105 110

 gct gct ggt tcg aat gtt act cta ctt gct gat cag gta agg aga ttt 384
 Ala Ala Gly Ser Asn Val Thr Leu Leu Ala Asp Gln Val Arg Arg Phe
 115 120 125

 aag cct gca ttg gtt gct gtt aga aac gag tca ctg att aat gag ctt 432
 Lys Pro Ala Leu Val Ala Val Arg Asn Glu Ser Leu Ile Asn Glu Leu
 130 135 140

 aaa gag gct tta gct gat ttg gac tat aaa ctc gag att att cca gga 480
 Lys Glu Ala Leu Ala Asp Leu Asp Tyr Lys Leu Glu Ile Ile Pro Gly
 145 150 155 160

 gag caa gga gtg att gag gtt gcc cga cat cct gaa gct gta acc gtt 528
 Glu Gln Gly Val Ile Glu Val Ala Arg His Pro Glu Ala Val Thr Val
 165 170 175

 gtt acc gga ata gta ggt tgt gcg gga cta aag cct acg gtt gct gca 576
 Val Thr Gly Ile Val Gly Cys Ala Gly Leu Lys Pro Thr Val Ala Ala
 180 185 190

att gaa gca gga aag gac att gct ctt gca aac aaa gag aca tta atc Ile Glu Ala Gly Lys Asp Ile Ala Leu Ala Asn Lys Glu Thr Leu Ile 195 200 205	624
 gca ggt ggt cct ttc gtg ctt ccg ctt gcc aac aaa cat aat gta aag Ala Gly Gly Pro Phe Val Leu Pro Leu Ala Asn Lys His Asn Val Lys 210 215 220	672
 att ctt ccg gca gat tca gaa cat tct gcc ata ttt cag tgt att caa Ile Leu Pro Ala Asp Ser Glu His Ser Ala Ile Phe Gln Cys Ile Gln 225 230 235 240	720
 ggt ttg cct gaa ggc gct ctg cgc aag ata atc ttg act gca tct ggt Gly Leu Pro Glu Gly Ala Leu Arg Lys Ile Ile Leu Thr Ala Ser Gly 245 250 255	768
 gga gct ttt agg gat tgg cct gtc gaa aag cta aag gaa gtt aaa gta Gly Ala Phe Arg Asp Trp Pro Val Glu Lys Leu Lys Glu Val Lys Val 260 265 270	816
 gcg gat gcg ttg aag cat cca aac tgg aac atg gga aag aaa atc act Ala Asp Ala Leu Lys His Pro Asn Trp Asn Met Gly Lys Lys Ile Thr 275 280 285	864
 gtg gac tct gct acg ctt ttc aac aag ggt ctt gag gtc att gaa gcg Val Asp Ser Ala Thr Leu Phe Asn Lys Gly Leu Glu Val Ile Glu Ala 290 295 300	912
 cat tat ttg ttt gga gct gag tat gac gat ata gag att gtc att cat His Tyr Leu Phe Gly Ala Glu Tyr Asp Asp Ile Glu Ile Val Ile His 305 310 315 320	960
 ccg caa agt atc ata cat tcc atg att gaa aca cag gat tca tct gtg Pro Gln Ser Ile Ile His Ser Met Ile Glu Thr Gln Asp Ser Ser Val 325 330 335	1008
 ctt gct caa ttg ggt tgg cct gat atg cgt tta ccg att ctc tac acc Leu Ala Gln Leu Gly Trp Pro Asp Met Arg Leu Pro Ile Leu Tyr Thr 340 345 350	1056
 atg tca tgg ccc gat aga gtt cct tgt tct gaa gta act tgg cca aga Met Ser Trp Pro Asp Arg Val Pro Cys Ser Glu Val Thr Trp Pro Arg 355 360 365	1104
 ctt gac ctt tgc aaa ctc ggt tca ttg act ttc aag aaa cca gac aat Leu Asp Leu Cys Lys Leu Gly Ser Leu Thr Phe Lys Lys Pro Asp Asn 370 375 380	1152
 gtg aaa tac cca tcc atg gat ctt gct tat gct gct gga cga gct gga Val Lys Tyr Pro Ser Met Asp Leu Ala Tyr Ala Ala Gly Arg Ala Gly 385 390 395 400	1200

ggc aca atg act gga gtt ctc agc gcc gaa aat gag aaa gct gtt gaa 1248
 Gly Thr Met Thr Gly Val Leu Ser Ala Ala Asn Glu Lys Ala Val Glu
 405 410 415

atg ttc att gat gaa aag ata agc tat ttg gat atc ttc aag gtt gtg 1296
 Met Phe Ile Asp Glu Lys Ile Ser Tyr Leu Asp Ile Phe Lys Val Val
 420 425 430

gaa tta aca tgc gat aaa cat cga aac gag ttg gta aca tca ccg tct 1344
 Glu Leu Thr Cys Asp Lys His Arg Asn Glu Leu Val Thr Ser Pro Ser
 435 440 445

ctt gaa gag att gtt cac tat gac ttg tgg gca cgt gaa tat gcc gcg 1392
 Leu Glu Glu Ile Val His Tyr Asp Leu Trp Ala Arg Glu Tyr Ala Ala
 450 455 460

aat gtg cag ctt tct tct ggt gct agg cca gtt cat gca tga 1434
 Asn Val Gln Leu Ser Ser Gly Ala Arg Pro Val His Ala
 465 470 475

<210> 14

<211> 477

<212> PRT

<213> *Arabidopsis thaliana*

<400> 14

Met Met Thr Leu Asn Ser Leu Ser Pro Ala Glu Ser Lys Ala Ile Ser
 1 5 10 15

Phe Leu Asp Thr Ser Arg Phe Asn Pro Ile Pro Lys Leu Ser Gly Gly
 20 25 30

Phe Ser Leu Arg Arg Arg Asn Gln Gly Arg Gly Phe Gly Lys Gly Val
 35 40 45

Lys Cys Ser Val Lys Val Gln Gln Gln Gln Pro Pro Pro Ala Trp
 50 55 60

Pro Gly Arg Ala Val Pro Glu Ala Pro Arg Gln Ser Trp Asp Gly Pro
 65 70 75 80

Lys Pro Ile Ser Ile Val Gly Ser Thr Gly Ser Ile Gly Thr Gln Thr
85 90 95

Leu Asp Ile Val Ala Glu Asn Pro Asp Lys Phe Arg Val Val Ala Leu
100 105 110

Ala Ala Gly Ser Asn Val Thr Leu Leu Ala Asp Gln Val Arg Arg Phe
115 120 125

Lys Pro Ala Leu Val Ala Val Arg Asn Glu Ser Leu Ile Asn Glu Leu
130 135 140

Lys Glu Ala Leu Ala Asp Leu Asp Tyr Lys Leu Glu Ile Ile Pro Gly
145 150 155 160

Glu Gln Gly Val Ile Glu Val Ala Arg His Pro Glu Ala Val Thr Val
165 170 175

Val Thr Gly Ile Val Gly Cys Ala Gly Leu Lys Pro Thr Val Ala Ala
180 185 190

Ile Glu Ala Gly Lys Asp Ile Ala Leu Ala Asn Lys Glu Thr Leu Ile
195 200 205

Ala Gly Gly Pro Phe Val Leu Pro Leu Ala Asn Lys His Asn Val Lys
210 215 220

Ile Leu Pro Ala Asp Ser Glu His Ser Ala Ile Phe Gln Cys Ile Gln
225 230 235 240

Gly Leu Pro Glu Gly Ala Leu Arg Lys Ile Ile Leu Thr Ala Ser Gly
245 250 255

Gly Ala Phe Arg Asp Trp Pro Val Glu Lys Leu Lys Glu Val Lys Val
260 265 270

Ala Asp Ala Leu Lys His Pro Asn Trp Asn Met Gly Lys Lys Ile Thr
275 280 285

Val Asp Ser Ala Thr Leu Phe Asn Lys Gly Leu Glu Val Ile Glu Ala
290 295 300

His Tyr Leu Phe Gly Ala Glu Tyr Asp Asp Ile Glu Ile Val Ile His
305 310 315 320

Pro Gln Ser Ile Ile His Ser Met Ile Glu Thr Gln Asp Ser Ser Val
325 330 335

Leu Ala Gln Leu Gly Trp Pro Asp Met Arg Leu Pro Ile Leu Tyr Thr
340 345 350

Met Ser Trp Pro Asp Arg Val Pro Cys Ser Glu Val Thr Trp Pro Arg
355 360 365

Leu Asp Leu Cys Lys Leu Gly Ser Leu Thr Phe Lys Lys Pro Asp Asn
370 375 380

Val Lys Tyr Pro Ser Met Asp Leu Ala Tyr Ala Ala Gly Arg Ala Gly
385 390 395 400

Gly Thr Met Thr Gly Val Leu Ser Ala Ala Asn Glu Lys Ala Val Glu
405 410 415

Met Phe Ile Asp Glu Lys Ile Ser Tyr Leu Asp Ile Phe Lys Val Val
420 425 430

Glu Leu Thr Cys Asp Lys His Arg Asn Glu Leu Val Thr Ser Pro Ser
435 440 445

Leu Glu Glu Ile Val His Tyr Asp Leu Trp Ala Arg Glu Tyr Ala Ala
450 455 460

Asn Val Gln Leu Ser Ser Gly Ala Arg Pro Val His Ala
465 470 475

<211> 884

<212> DNA

<213> Adonis palaestina clone ApIPI28

<220>

<221> CDS

<222> (180) .. (884)

<223>

<400> 15
 cgtcgatcag gattaatcct ttatatagtta tcttctccac caccactaaa acattatcag 60
 cttcgtgttc ttctcccgct gttcatcttc agcagcgttg tcgtactctt tctatttctt 120
 cttccatcac taacagtccct cgccgagggt tgaatcggct gttcgccctca acgtcgact 179
 atg ggt gaa gtc gct gat gct ggt atg gat gcc gtc cag aag cgg ctt 227
 Met Gly Glu Val Ala Asp Ala Gly Met Asp Ala Val Gln Lys Arg Leu
 1 5 10 15
 atg ttc gac gat gaa tgt att ttg gtg gat gag aat gac aag gtc gtc 275
 Met Phe Asp Asp Glu Cys Ile Leu Val Asp Glu Asn Asp Lys Val Val
 20 25 30
 gga cat gat tcc aaa tac aac tgt cat ttg atg gaa aag ata gag gca 323
 Gly His Asp Ser Lys Tyr Asn Cys His Leu Met Glu Lys Ile Glu Ala
 35 40 45
 gaa aac ttg ctt cac aga gcc ttc agt gtt ttc tta ttc aac tca aaa 371
 Glu Asn Leu Leu His Arg Ala Phe Ser Val Phe Leu Phe Asn Ser Lys
 50 55 60
 tac gag ttg ctt ctt cag caa cga tct gca acg aag gta aca ttc ccg 419
 Tyr Glu Leu Leu Leu Gln Gln Arg Ser Ala Thr Lys Val Thr Phe Pro
 65 70 75 80
 ctc gta tgg aca aac acc tgt tgc agc cat ccc ctc ttc cgt gat tcc 467
 Leu Val Trp Thr Asn Thr Cys Cys Ser His Pro Leu Phe Arg Asp Ser
 85 90 95
 gaa ctc ata gaa gaa aat ttt ctc ggg gta cga aac gct gca caa agg 515
 Glu Leu Ile Glu Glu Asn Phe Leu Gly Val Arg Asn Ala Ala Gln Arg
 100 105 110

aag ctt tta gac gag cta ggc att cca gct gaa gac gta cca gtt gat		563	
Lys Leu Leu Asp Glu Leu Gly Ile Pro Ala Glu Asp Val Pro Val Asp			
115	120	125	
gaa ttc act cct ctt ggt cgc att ctt tac aaa gct cca tct gac gga		611	
Glu Phe Thr Pro Leu Gly Arg Ile Leu Tyr Lys Ala Pro Ser Asp Gly			
130	135	140	
aaa tgg gga gag cac gaa ctg gac tat ctt ctg ttt att gtc cga gat		659	
Lys Trp Gly Glu His Glu Leu Asp Tyr Leu Leu Phe Ile Val Arg Asp			
145	150	155	160
gtg aaa tac gat cca aac cca gat gaa gtt gct gac gct aag tac gtt		707	
Val Lys Tyr Asp Pro Asn Pro Asp Glu Val Ala Asp Ala Lys Tyr Val			
165	170	175	
aat cgc gag gag ttg aaa gag ata ctg aga aaa gct gat gca ggt gaa		755	
Asn Arg Glu Glu Leu Lys Glu Ile Leu Arg Lys Ala Asp Ala Gly Glu			
180	185	190	
gag gga ata aag ttg tct cct tgg ttt aga ttg gtt gtg gat aac ttt		803	
Glu Gly Ile Lys Leu Ser Pro Trp Phe Arg Leu Val Val Asp Asn Phe			
195	200	205	
ttg ttc aag tgg tgg gat cat gta gag gag ggg aag att aag gac gtc		851	
Leu Phe Lys Trp Trp Asp His Val Glu Glu Gly Lys Ile Lys Asp Val			
210	215	220	
gcc gac atg aaa act atc cac aag ttg act taa		884	
Ala Asp Met Lys Thr Ile His Lys Leu Thr			
225	230		
<210> 16			
<211> 234			
<212> PRT			
<213> Adonis palaestina clone ApIPI28			
<400> 16			
Met Gly Glu Val Ala Asp Ala Gly Met Asp Ala Val Gln Lys Arg Leu			
1	5	10	15
Met Phe Asp Asp Glu Cys Ile Leu Val Asp Glu Asn Asp Lys Val Val			
20	25	30	

Gly His Asp Ser Lys Tyr Asn Cys His Leu Met Glu Lys Ile Glu Ala
35 40 45

Glu Asn Leu Leu His Arg Ala Phe Ser Val Phe Leu Phe Asn Ser Lys
50 55 60

Tyr Glu Leu Leu Gln Gln Arg Ser Ala Thr Lys Val Thr Phe Pro
65 70 75 80

Leu Val Trp Thr Asn Thr Cys Cys Ser His Pro Leu Phe Arg Asp Ser
85 90 95

Glu Leu Ile Glu Glu Asn Phe Leu Gly Val Arg Asn Ala Ala Gln Arg
100 105 110

Lys Leu Leu Asp Glu Leu Gly Ile Pro Ala Glu Asp Val Pro Val Asp
115 120 125

Glu Phe Thr Pro Leu Gly Arg Ile Leu Tyr Lys Ala Pro Ser Asp Gly
130 135 140

Lys Trp Gly Glu His Glu Leu Asp Tyr Leu Leu Phe Ile Val Arg Asp
145 150 155 160

Val Lys Tyr Asp Pro Asn Pro Asp Glu Val Ala Asp Ala Lys Tyr Val
165 170 175

Asn Arg Glu Glu Leu Lys Glu Ile Leu Arg Lys Ala Asp Ala Gly Glu
180 185 190

Glu Gly Ile Lys Leu Ser Pro Trp Phe Arg Leu Val Val Asp Asn Phe
195 200 205

Leu Phe Lys Trp Trp Asp His Val Glu Glu Gly Lys Ile Lys Asp Val
210 215 220

Ala Asp Met Lys Thr Ile His Lys Leu Thr
225 230

<210> 17

<211> 1402

<212> DNA

<213> *Arabidopsis thaliana*

<220>

<221> CDS

<222> (52) ..(1317)

<223>

<400> 17
aagtctttgc ctcttgggt tacttcctc tgtttcgat ccatttagaa a atg tta 57
Met Leu
1

ttc acg agg agt gtt gct cgg att tct tct aag ttt ctg aga aac cgt 105
Phe Thr Arg Ser Val Ala Arg Ile Ser Ser Lys Phe Leu Arg Asn Arg
5 10 15

agc ttc tat ggc tcc tct caa tct ctc gcc tct cat cgg ttc gca atc 153
Ser Phe Tyr Ser Ser Gln Ser Leu Ala Ser His Arg Phe Ala Ile
20 25 30

att ccc gat cag ggt cac tct tgt tct gac tct cca cac aag ggt tac 201
Ile Pro Asp Gln Gly His Ser Cys Ser Asp Ser Pro His Lys Gly Tyr
35 40 45 50

gtt tgc aga aca act tat tca ttg aaa tct ccg gtt ttt ggt gga ttt 249
Val Cys Arg Thr Tyr Ser Leu Lys Ser Pro Val Phe Gly Gly Phe
55 60 65

agt cat caa ctc tat cac cag agt agc tcc ttg gtt gag gag gag ctt 297
Ser His Gln Leu Tyr His Gln Ser Ser Leu Val Glu Glu Glu Leu
70 75 80

gac cca ttt tcg ctt gtt gcc gat gag ctg tca ctt ctt agt aat aag 345
Asp Pro Phe Ser Leu Val Ala Asp Glu Leu Ser Leu Leu Ser Asn Lys
85 90 95

ttg aga gag atg gta ctt gcc gag gtt cca aag ctt gcc tct gct gct 393

Leu Arg Glu Met Val Leu Ala Glu Val Pro Lys Leu Ala Ser Ala Ala			
100	105	110	
gag tac ttc ttc aaa agg ggt gtg caa gga aaa cag ttt cgt tca act 441			
Glu Tyr Phe Phe Lys Arg Gly Val Gln Gly Lys Gln Phe Arg Ser Thr			
115	120	125	130
att ttg ctg ctg atg gcg aca gct ctg gat gta cga gtt cca gaa gca 489			
Ile Leu Leu Leu Met Ala Thr Ala Leu Asp Val Arg Val Pro Glu Ala			
135	140	145	
ttg att ggg gaa tca aca gat ata gtc aca tca gaa tta cgc gta agg 537			
Leu Ile Gly Glu Ser Thr Asp Ile Val Thr Ser Glu Leu Arg Val Arg			
150	155	160	
caa cgg ggt att gct gaa atc act gaa atg ata cac gtc gca agt cta 585			
Gln Arg Gly Ile Ala Glu Ile Thr Glu Met Ile His Val Ala Ser Leu			
165	170	175	
ctg cac gat gat gtc ttg gat gat gcc gat aca agg cgt ggt gtt ggt 633			
Leu His Asp Asp Val Leu Asp Asp Ala Asp Thr Arg Arg Gly Val Gly			
180	185	190	
tcc tta aat gtt gta atg ggt aac aag atg tcg gta tta gca gga gac 681			
Ser Leu Asn Val Val Met Gly Asn Lys Met Ser Val Leu Ala Gly Asp			
195	200	205	210
ttc ttg ctc tcc cgg gct tgt ggg gct ctc gct gct tta aag aac aca 729			
Phe Leu Leu Ser Arg Ala Cys Gly Ala Leu Ala Ala Leu Lys Asn Thr			
215	220	225	
gag gtt gta gca tta ctt gca act gct gta gaa cat ctt gtt acc ggt 777			
Glu Val Val Ala Leu Leu Ala Thr Ala Val Glu His Leu Val Thr Gly			
230	235	240	
gaa acc atg gag ata act agt tca acc gag cag cgt tat agt atg gac 825			
Glu Thr Met Glu Ile Thr Ser Ser Thr Glu Gln Arg Tyr Ser Met Asp			
245	250	255	
tac tac atg cag aag aca tat tat aag aca gca tcg cta atc tct aac 873			
Tyr Tyr Met Gln Lys Thr Tyr Tyr Lys Thr Ala Ser Leu Ile Ser Asn			
260	265	270	
agc tgc aaa gct gtt gcc gtt ctc act gga caa aca gca gaa gtt gcc 921			
Ser Cys Lys Ala Val Ala Val Leu Thr Gly Gln Thr Ala Glu Val Ala			
275	280	285	290
gtg tta gct ttt gag tat ggg agg aat ctg ggt tta gca ttc caa tta 969			
Val Leu Ala Phe Glu Tyr Gly Arg Asn Leu Gly Leu Ala Phe Gln Leu			
295	300	305	
ata gac gac att ctt gat ttc acg ggc aca tct gcc tct ctc gga aag 1017			

45

Ile Asp Asp Ile Leu Asp Phe Thr Gly Thr Ser Ala Ser Leu Gly Lys			
310	315	320	
gga tcg ttg tca gat att cgc cat gga gtc ata aca gcc cca atc ctc			1065
Gly Ser Leu Ser Asp Ile Arg His Gly Val Ile Thr Ala Pro Ile Leu			
325	330	335	
ttt gcc atg gaa gag ttt cct caa cta cgc gaa gtt gtt gat caa gtt			1113
Phe Ala Met Glu Glu Phe Pro Gln Leu Arg Glu Val Val Asp Gln Val			
340	345	350	
gaa aaa gat cct agg aat gtt gac att gct tta gag tat ctt ggg aag			1161
Glu Lys Asp Pro Arg Asn Val Asp Ile Ala Leu Glu Tyr Leu Gly Lys			
355	360	365	370
agc aag gga ata cag agg gca aga gaa tta gcc atg gaa cat gcg aat			1209
Ser Lys Gly Ile Gln Arg Ala Arg Glu Leu Ala Met Glu His Ala Asn			
375	380	385	
cta gca gca gct gca atc ggg tct cta cct gaa aca gac aat gaa gat			1257
Leu Ala Ala Ala Ala Ile Gly Ser Leu Pro Glu Thr Asp Asn Glu Asp			
390	395	400	
gtc aaa aga tcg agg cgg gca ctt att gac ttg acc cat aga gtc atc			1305
Val Lys Arg Ser Arg Arg Ala Leu Ile Asp Leu Thr His Arg Val Ile			
405	410	415	
acc aga aac aag tgagattaag taatgtttct ctctatacac caaaacattc			1357
Thr Arg Asn Lys			
420			
ctcatttcat ttgttaggatt ttgttgtcc aattcggttc acgaa			1402

<210> 18

<211> 422

<212> PRT

<213> *Arabidopsis thaliana*

<400> 18

Met Leu Phe Thr Arg Ser Val Ala Arg Ile Ser Ser Lys Phe Leu Arg			
1	5	10	15

Asn Arg Ser Phe Tyr Gly Ser Ser Gln Ser Leu Ala Ser His Arg Phe			
20	25	30	

Ala Ile Ile Pro Asp Gln Gly His Ser Cys Ser Asp Ser Pro His Lys
35 40 45

Gly Tyr Val Cys Arg Thr Thr Tyr Ser Leu Lys Ser Pro Val Phe Gly
50 55 60

Gly Phe Ser His Gln Leu Tyr His Gln Ser Ser Ser Leu Val Glu Glu
65 70 75 80

Glu Leu Asp Pro Phe Ser Leu Val Ala Asp Glu Leu Ser Leu Leu Ser
85 90 95

Asn Lys Leu Arg Glu Met Val Leu Ala Glu Val Pro Lys Leu Ala Ser
100 105 110

Ala Ala Glu Tyr Phe Phe Lys Arg Gly Val Gln Gly Lys Gln Phe Arg
115 120 125

Ser Thr Ile Leu Leu Leu Met Ala Thr Ala Leu Asp Val Arg Val Pro
130 135 140

Glu Ala Leu Ile Gly Glu Ser Thr Asp Ile Val Thr Ser Glu Leu Arg
145 150 155 160

Val Arg Gln Arg Gly Ile Ala Glu Ile Thr Glu Met Ile His Val Ala
165 170 175

Ser Leu Leu His Asp Asp Val Leu Asp Asp Ala Asp Thr Arg Arg Gly
180 185 190

Val Gly Ser Leu Asn Val Val Met Gly Asn Lys Met Ser Val Leu Ala
195 200 205

Gly Asp Phe Leu Leu Ser Arg Ala Cys Gly Ala Leu Ala Ala Leu Lys
210 215 220

Asn Thr Glu Val Val Ala Leu Leu Ala Thr Ala Val Glu His Leu Val
225 230 235 240

Thr Gly Glu Thr Met Glu Ile Thr Ser Ser Thr Glu Gln Arg Tyr Ser
245 250 255

Met Asp Tyr Tyr Met Gln Lys Thr Tyr Tyr Lys Thr Ala Ser Leu Ile
260 265 270

Ser Asn Ser Cys Lys Ala Val Ala Val Leu Thr Gly Gln Thr Ala Glu
275 280 285

Val Ala Val Leu Ala Phe Glu Tyr Gly Arg Asn Leu Gly Leu Ala Phe
290 295 300

Gln Leu Ile Asp Asp Ile Leu Asp Phe Thr Gly Thr Ser Ala Ser Leu
305 310 315 320

Gly Lys Gly Ser Leu Ser Asp Ile Arg His Gly Val Ile Thr Ala Pro
325 330 335

Ile Leu Phe Ala Met Glu Glu Phe Pro Gln Leu Arg Glu Val Val Asp
340 345 350

Gln Val Glu Lys Asp Pro Arg Asn Val Asp Ile Ala Leu Glu Tyr Leu
355 360 365

Gly Lys Ser Lys Gly Ile Gln Arg Ala Arg Glu Leu Ala Met Glu His
370 375 380

Ala Asn Leu Ala Ala Ala Ile Gly Ser Leu Pro Glu Thr Asp Asn
385 390 395 400

Glu Asp Val Lys Arg Ser Arg Arg Ala Leu Ile Asp Leu Thr His Arg
405 410 415

Val Ile Thr Arg Asn Lys
420

<211> 1155

<212> DNA

<213> *Arabidopsis thaliana*

<220>

<221> CDS

:<222> (1) .. (1155)

<223>

<400> 19

atg agt gtg agt tgt tgt agg aat ctg ggc aag aca ata aaa aag
Met Ser Val Ser Cys Cys Cys Arg Asn Leu Gly Lys Thr Ile Lys Lys
1 5 10 15

48

96

tat cgt cgt cgt atc caa agc tct tca atg gag acc gat ctc aag tca
 Tyr Arg Arg Arg Ile Gln Ser Ser Ser Met Glu Thr Asp Leu Lys Ser
 35 40 45

144

```

acc ttt ctc aac gtt tat tct gtt ctc aag tct gac ctt ctt cat gac
Thr Phe Leu Asn Val Tyr Ser Val Leu Lys Ser Asp Leu Leu His Asp
      50           55           60

```

192

240

ctg gac tac aat gta cgt gga ggg aaa ctc aat cg_g ggt ctc tct gtt
 Leu Asp Tyr Asn Val Arg Gly Gly Lys Leu Asn Arg Gly Leu Ser Val
 85 90 95

288

336

gag gtt ttc ctc tct tgt gct ctc ggt tgg tgc att gaa tgg ctc caa
 Glu Val Phe Leu Ser Cys Ala Leu Gly Trp Cys Ile Glu Trp Leu Gln
 115 120 125

384

gct tat ttc ctt gtg ctt gat gat att atg gat aac tct gtc act cgc

432

Ala Tyr Phe Leu Val Leu Asp Asp Ile Met Asp Asn Ser Val Thr Arg
 130 135 140

cgt ggt caa cct tgc tgg ttc aga gtt cct cag gtt ggt atg gtt gcc 480
 Arg Gly Gln Pro Cys Trp Phe Arg Val Pro Gln Val Gly Met Val Ala
 145 150 155 160

atc aat gat ggg att cta ctt cgc aat cac atc cac agg att ctc aaa 528
 Ile Asn Asp Gly Ile Leu Leu Arg Asn His Ile His Arg Ile Leu Lys
 165 170 175

aag cat ttc cgt gat aag cct tac tat gtt gac ctt gtt gat ttg ttt 576
 Lys His Phe Arg Asp Lys Pro Tyr Tyr Val Asp Leu Val Asp Leu Phe
 180 185 190

aat gag gtt gag ttg caa aca gct tgt ggc cag atg ata gat ttg atc 624
 Asn Glu Val Glu Leu Gln Thr Ala Cys Gly Gln Met Ile Asp Leu Ile
 195 200 205

acc acc ttt gaa gga gaa aag gat ttg gcc aag tac tca ttg tca atc 672
 Thr Thr Phe Glu Gly Glu Lys Asp Leu Ala Lys Tyr Ser Leu Ser Ile
 210 215 220

cac cgt cgt att gtc cag tac aaa acg gct tat tac tca ttt tat ctc. 720
 His Arg Arg Ile Val Gln Tyr Lys Thr Ala Tyr Tyr Ser Phe Tyr Leu
 225 230 235 240

cct gtt gct tgt gcg ttg ctt atg gcg ggc gaa aat ttg gaa aac cat 768
 Pro Val Ala Cys Ala Leu Leu Met Ala Gly Glu Asn Leu Glu Asn His
 245 250 255

att gac gtg aaa aat gtt ctt gtt gac atg gga atc tac ttc caa gtg 816
 Ile Asp Val Lys Asn Val Leu Val Asp Met Gly Ile Tyr Phe Gln Val
 260 265 270

cag gat gat tat ctg gat tgt ttt gct gat ccc gag acg ctt ggc aag 864
 Gln Asp Asp Tyr Leu Asp Cys Phe Ala Asp Pro Glu Thr Leu Gly Lys
 275 280 285

ata gga aca gat ata gaa gat ttc aaa tgc tcg tgg ttg gtg gtt aag 912
 Ile Gly Thr Asp Ile Glu Asp Phe Lys Cys Ser Trp Leu Val Val Lys
 290 295 300

gca tta gag cgc tgc agc gaa gaa caa act aag ata tta tat gag aac 960
 Ala Leu Glu Arg Cys Ser Glu Glu Gln Thr Lys Ile Leu Tyr Glu Asn
 305 310 315 320

tat ggt aaa ccc gac cca tcg aac gtt gct aaa gtg aag gat ctc tac 1008
 Tyr Gly Lys Pro Asp Pro Ser Asn Val Ala Lys Val Lys Asp Leu Tyr
 325 330 335

aaa gag ctg gat ctt gag gga gtt ttc atg gag tat gag agc aaa agc 1056

50

Lys Glu Leu Asp Leu Glu Gly Val Phe Met Glu Tyr Glu Ser Lys Ser
340 345 350

tac gag aag ctg act gga gcg att gag gga cac caa agt aaa gca atc 1104
Tyr Glu Lys Leu Thr Gly Ala Ile Glu Gly His Gln Ser Lys Ala Ile
355 360 365

caa gca gtg cta aaa tcc ttc ttg gct aag atc tac aag agg cag aag 1152
Gln Ala Val Leu Lys Ser Phe Leu Ala Lys Ile Tyr Lys Arg Gln Lys
370 375 380

tag 1155

<210> 20

<211> 384

<212> PRT

<213> *Arabidopsis thaliana*

<400> 20

Met Ser Val Ser Cys Cys Cys Arg Asn Leu Gly Lys Thr Ile Lys Lys
1 5 10 15

Ala Ile Pro Ser His His Leu His Leu Arg Ser Leu Gly Gly Ser Leu
20 25 30

Tyr Arg Arg Arg Ile Gln Ser Ser Ser Met Glu Thr Asp Leu Lys Ser
35 40 45

Thr Phe Leu Asn Val Tyr Ser Val Leu Lys Ser Asp Leu Leu His Asp
50 55 60

Pro Ser Phe Glu Phe Thr Asn Glu Ser Arg Leu Trp Val Asp Arg Met
65 70 75 80

Leu Asp Tyr Asn Val Arg Gly Gly Lys Leu Asn Arg Gly Leu Ser Val
85 90 95

Val Asp Ser Phe Lys Leu Leu Lys Gln Gly Asn Asp Leu Thr Glu Gln
100 105 110

Glu Val Phe Leu Ser Cys Ala Leu Gly Trp Cys Ile Glu Trp Leu Gln
115 120 125

Ala Tyr Phe Leu Val Leu Asp Asp Ile Met Asp Asn Ser Val Thr Arg
130 135 140

Arg Gly Gln Pro Cys Trp Phe Arg Val Pro Gln Val Gly Met Val Ala
145 150 155 160

Ile Asn Asp Gly Ile Leu Leu Arg Asn His Ile His Arg Ile Leu Lys
165 170 175

Lys His Phe Arg Asp Lys Pro Tyr Tyr Val Asp Leu Val Asp Leu Phe
180 185 190

Asn Glu Val Glu Leu Gln Thr Ala Cys Gly Gln Met Ile Asp Leu Ile
195 200 205

Thr Thr Phe Glu Gly Glu Lys Asp Leu Ala Lys Tyr Ser Leu Ser Ile
210 215 220

His Arg Arg Ile Val Gln Tyr Lys Thr Ala Tyr Tyr Ser Phe Tyr Leu
225 230 235 240

Pro Val Ala Cys Ala Leu Leu Met Ala Gly Glu Asn Leu Glu Asn His
245 250 255

Ile Asp Val Lys Asn Val Leu Val Asp Met Gly Ile Tyr Phe Gln Val
260 265 270

Gln Asp Asp Tyr Leu Asp Cys Phe Ala Asp Pro Glu Thr Leu Gly Lys
275 280 285

Ile Gly Thr Asp Ile Glu Asp Phe Lys Cys Ser Trp Leu Val Val Lys
290 295 300

Ala Leu Glu Arg Cys Ser Glu Glu Gln Thr Lys Ile Leu Tyr Glu Asn
305 310 315 320

Tyr Gly Lys Pro Asp Pro Ser Asn Val Ala Lys Val Lys Asp Leu Tyr
325 330 335

Lys Glu Leu Asp Leu Glu Gly Val Phe Met Glu Tyr Glu Ser Lys Ser
340 345 350

Tyr Glu Lys Leu Thr Gly Ala Ile Glu Gly His Gln Ser Lys Ala Ile
355 360 365

Gln Ala Val Leu Lys Ser Phe Leu Ala Lys Ile Tyr Lys Arg Gln Lys
370 375 380

<210> 21

<211> 1101

<212> DNA

<213> Sinabs alba

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(1101)

<223>

<400> 21
atg gct tct tca gtg act cct cta ggt tca tgg gtt ctt ctt cac cat 48
Met Ala Ser Ser Val Thr Pro Leu Gly Ser Trp Val Leu Leu His His
1 5 10 15

cat cct tca act atc tta acc caa tcc aga tcc aga tct cct cct tct 96
His Pro Ser Thr Ile Leu Thr Gln Ser Arg Ser Arg Ser Pro Pro Ser
20 25 30

ctc atc acc ctt aaa ccc atc tcc ctc act cca aaa cgc acc gtt tcg 144
Leu Ile Thr Leu Lys Pro Ile Ser Leu Thr Pro Lys Arg Thr Val Ser
35 40 45

tct tct tcc tcc tct tcc ctc atc acc aaa gaa gac aac aac ctc aaa 192

Ser Ser Ser Ser Ser Leu Ile Thr Lys Glu Asp Asn Asn Leu Lys		
50	55	60
tcc tct tcc tct tcc gat ttc atg tct tac atc atc cgc aaa gcc		240
Ser Ser Ser Ser Phe Asp Phe Met Ser Tyr Ile Ile Arg Lys Ala		
65	70	75
gac tcc gtc aac aaa gcc tta gac tcc gcc gtc cct ctc cgg gag cca		288
Asp Ser Val Asn Lys Ala Leu Asp Ser Ala Val Pro Leu Arg Glu Pro		
85	90	95
ctc aag atc cac gaa gcg atg cgt tac tct ctc gcc gga gga aaa		336
Leu Lys Ile His Glu Ala Met Arg Tyr Ser Leu Leu Ala Gly Gly Lys		
100	105	110
cgc gtc aga cca gtt ctc tgc atc gcc gcg tgc gag cta gtc gga gga		384
Arg Val Arg Pro Val Leu Cys Ile Ala Ala Cys Glu Leu Val Gly Gly		
115	120	125
gaa gag tct tta gct atg ccg gcg cgt tgc gcc gtg gaa atg atc cac		432
Glu Glu Ser Leu Ala Met Pro Ala Arg Cys Ala Val Glu Met Ile His		
130	135	140
acc atg tcg ttg atc cac gac gac ttg cct tgt atg gat aac gac gat		480
Thr Met Ser Leu Ile His Asp Asp Leu Pro Cys Met Asp Asn Asp Asp		
145	150	155
160		
ctc cgc cgc gga aag ccc acg aat cac aaa gtt tac ggc gaa gac gtg		528
Leu Arg Arg Gly Lys Pro Thr Asn His Lys Val Tyr Gly Glu Asp Val		
165	170	175
gcg gtt tta gcc gga gac gcg ctt ctt tcg ttc gcc ttc gag cat tta		576
Ala Val Leu Ala Gly Asp Ala Leu Leu Ser Phe Ala Phe Glu His Leu		
180	185	190
gcg tcg gct acg agc tcg gag gtt tct ccg gcg aga gtg gtt aga gct		624
Ala Ser Ala Thr Ser Ser Glu Val Ser Pro Ala Arg Val Val Arg Ala		
195	200	205
gtg gga gag ttg gct aaa gcc atc ggc acc gaa ggg ctc gtg gcg gga		672
Val Gly Glu Leu Ala Lys Ala Ile Gly Thr Glu Gly Leu Val Ala Gly		
210	215	220
caa gtg gtg gat ata agc agt gaa ggg ttg gac tta aac aac gtc gga		720
Gln Val Val Asp Ile Ser Ser Glu Gly Leu Asp Leu Asn Asn Val Gly		
225	230	235
240		
ttg gag cat ttg aag ttt ata cat ttg cat aaa acg gcg gcg ttg ctt		768
Leu Glu His Leu Lys Phe Ile His Leu His Lys Thr Ala Ala Leu Leu		
245	250	255
gaa gct tca gcg gtt ttg ggt ggg atc atc ggt gga ggg agt gat gaa		816

Glu Ala Ser Ala Val Leu Gly Gly Ile Ile Gly Gly Ser Asp Glu			
260	265	270	
gag atc gag agg ctg agg aag ttc gcg agg tgt att ggg ttg ttg ttt			864
Glu Ile Glu Arg Leu Arg Lys Phe Ala Arg Cys Ile Gly Leu Leu Phe			
275	280	285	
cag gtg gtt gat gat atc ttg gac gtg acg aaa tcg tct caa gaa ctg			912
Gln Val Val Asp Asp Ile Leu Asp Val Thr Lys Ser Ser Gln Glu Leu			
290	295	300	
ggg aaa acc gct ggg aaa gat ttg att gct gat aag ttg act tat ccg			960
Gly Lys Thr Ala Gly Lys Asp Leu Ile Ala Asp Lys Leu Thr Tyr Pro			
305	310	315	320
aag ctc atg ggt ttg gag aaa tcg aga gag ttc gct gag aag ttg aat			1008
Lys Leu Met Gly Leu Glu Lys Ser Arg Glu Phe Ala Glu Lys Leu Asn			
325	330	335	
aca gag gca cgt gat cag ctt tta ggg ttt gat tcc gac aag gtt gct			1056
Thr Glu Ala Arg Asp Gln Leu Leu Gly Phe Asp Ser Asp Lys Val Ala			
340	345	350	
cct ttg ttg gct ttg gct aat tac att gcc aat aga cag aac tga			1101
Pro Leu Leu Ala Leu Ala Asn Tyr Ile Ala Asn Arg Gln Asn			
355	360	365	
<210> 22			
<211> 366			
<212> PRT			
<213> Sinabs alba			
<400> 22			
Met Ala Ser Ser Val Thr Pro Leu Gly Ser Trp Val Leu Leu His His			
1	5	10	15
His Pro Ser Thr Ile Leu Thr Gln Ser Arg Ser Arg Ser Pro Pro Ser			
20	25	30	
Leu Ile Thr Leu Lys Pro Ile Ser Leu Thr Pro Lys Arg Thr Val Ser			
35	40	45	

55

Ser Ser Ser Ser Ser Ser Leu Ile Thr Lys Glu Asp Asn Asn Leu Lys
50 55 60

Ser Ser Ser Ser Phe Asp Phe Met Ser Tyr Ile Ile Arg Lys Ala
65 70 75 80

Asp Ser Val Asn Lys Ala Leu Asp Ser Ala Val Pro Leu Arg Glu Pro
85 90 95

Leu Lys Ile His Glu Ala Met Arg Tyr Ser Leu Leu Ala Gly Gly Lys
100 105 110

Arg Val Arg Pro Val Leu Cys Ile Ala Ala Cys Glu Leu Val Gly Gly
115 120 125

Glu Glu Ser Leu Ala Met Pro Ala Arg Cys Ala Val Glu Met Ile His
130 135 140

Thr Met Ser Leu Ile His Asp Asp Leu Pro Cys Met Asp Asn Asp Asp
145 150 155 160

Leu Arg Arg Gly Lys Pro Thr Asn His Lys Val Tyr Gly Glu Asp Val
165 170 175

Ala Val Leu Ala Gly Asp Ala Leu Leu Ser Phe Ala Phe Glu His Leu
180 185 190

Ala Ser Ala Thr Ser Ser Glu Val Ser Pro Ala Arg Val Val Arg Ala
195 200 205

Val Gly Glu Leu Ala Lys Ala Ile Gly Thr Glu Gly Leu Val Ala Gly
210 215 220

Gln Val Val Asp Ile Ser Ser Glu Gly Leu Asp Leu Asn Asn Val Gly
225 230 235 240

Leu Glu His Leu Lys Phe Ile His Leu His Lys Thr Ala Ala Leu Leu
245 250 255

56

Glu Ala Ser Ala Val Leu Gly Gly Ile Ile Gly Gly Ser Asp Glu
260 265 270

- Glu Ile Glu Arg Leu Arg Lys Phe Ala Arg Cys Ile Gly Leu Leu Phe
275 280 285

Gln Val Val Asp Asp Ile Leu Asp Val Thr Lys Ser Ser Gln Glu Leu
290 295 300

Gly Lys Thr Ala Gly Lys Asp Leu Ile Ala Asp Lys Leu Thr Tyr Pro
305 310 315 320

Lys Leu Met Gly Leu Glu Lys Ser Arg Glu Phe Ala Glu Lys Leu Asn
325 330 335

Thr Glu Ala Arg Asp Gln Leu Leu Gly Phe Asp Ser Asp Lys Val Ala
340 345 350

Pro Leu Leu Ala Leu Ala Asn Tyr Ile Ala Asn Arg Gln Asn
355 360 365

<210> 23

<211> 930

<212> DNA

<213> Erwinia uredovora

<220>

<221> CDS

<222> (1) .. (930)

<223>

<400> 23
atg aat aat ccg tcg tta ctc aat cat gcg gtc gaa acg atg gca gtt 48
Met Asn Asn Pro Ser Leu Leu Asn His Ala Val Glu Thr Met Ala Val
1 5 10 15

ggc tcg aaa agt ttt gcg aca gcc tca aag tta ttt gat gca aaa acc Gly Ser Lys Ser Phe Ala Thr Ala Ser Lys Leu Phe Asp Ala Lys Thr	96	
20	25	30
 cgcgccagcgtactgatgcctacgccgggtgcgccattgtgacgat Arg Arg Ser Val Leu Met Leu Tyr Ala Trp Cys Arg His Cys Asp Asp	144	
35	40	45
 gttattgacgatcagacgctggc ttt cag gcc cgccagcctgcc tta Val Ile Asp Asp Gln Thr Leu Gly Phe Gln Ala Arg Gln Pro Ala Leu	192	
50	55	60
 caa acg ccc gaa caa cgt ctg atg caa ctt gag atg aaa acg cgc cag Gln Thr Pro Glu Gln Arg Leu Met Gln Leu Glu Met Lys Thr Arg Gln	240	
65	70	75
		80
 gcc tat gca gga tcg cag atg cac gaa ccg gcg ttt gcg gct ttt cag Ala Tyr Ala Gly Ser Gln Met His Glu Pro Ala Phe Ala Ala Phe Gln	288	
85	90	95
 gaa gtg gct atg gct cat gat atc gcc ccg gct tac gcg ttt gat cat Glu Val Ala Met Ala His Asp Ile Ala Pro Ala Tyr Ala Phe Asp His	336	
100	105	110
 ctg gaa ggc ttc gcc atg gat gta cgc gaa gcg caa tac agc caa ctg Leu Glu Gly Phe Ala Met Asp Val Arg Glu Ala Gln Tyr Ser Gln Leu	384	
115	120	125
 gat gat acg ctg cgc tat tgc tat cac gtt gca ggc gtt gtc ggc ttg Asp Asp Thr Leu Arg Tyr Cys Tyr His Val Ala Gly Val Val Gly Leu	432	
130	135	140
 atg atg gcg caa atc atg ggc gtg cgg gat aac gcc acg ctg gac cgc Met Met Ala Gln Ile Met Gly Val Arg Asp Asn Ala Thr Leu Asp Arg	480	
145	150	155
		160
 gcc tgt gac ctt ggg ctg gca ttt cag ttg acc aat att gct cgc gat Ala Cys Asp Leu Gly Leu Ala Phe Gln Leu Thr Asn Ile Ala Arg Asp	528	
165	170	175
 att gtg gac gat gcg cat gcg ggc cgc tgt tat ctg ccg gca agc tgg Ile Val Asp Asp Ala His Ala Gly Arg Cys Tyr Leu Pro Ala Ser Trp	576	
180	185	190
 ctg gag cat gaa ggt ctg aac aaa gag aat tat gcg gca cct gaa aac Leu Glu His Glu Gly Leu Asn Lys Glu Asn Tyr Ala Ala Pro Glu Asn	624	
195	200	205
 cgt cag gcg ctg agc cgt atc gcc cgt cgt ttg gtg cag gaa gca gaa Arg Gln Ala Leu Ser Arg Ile Ala Arg Arg Leu Val Gln Glu Ala Glu	672	
210	215	220

cct tac tat ttg tct gcc aca gcc ggc ctg gca ggg ttg ccc ctg cgt 720
 Pro Tyr Tyr Leu Ser Ala Thr Ala Gly Leu Ala Gly Leu Pro Leu Arg
 225 230 235 240

tcc gcc tgg gca atc gct acg gcg aag cag gtt tac cgg aaa ata ggt 768
 Ser Ala Trp Ala Ile Ala Thr Ala Lys Gln Val Tyr Arg Lys Ile Gly
 245 250 255

gtc aaa gtt gaa cag gcc ggt cag caa gcc tgg gat cag cgg cag tca 816
 Val Lys Val Glu Gln Ala Gly Gln Gln Ala Trp Asp Gln Arg Gln Ser
 260 265 270

acg acc acg ccc gaa aaa tta acg ctg ctg gcc gcc tct ggt cag 864
 Thr Thr Pro Glu Lys Leu Thr Leu Leu Ala Ala Ser Gly Gln
 275 280 285

gcc ctt act tcc cgg atg cgg gct cat cct ccc cgc cct gcg cat ctc 912
 Ala Leu Thr Ser Arg Met Arg Ala His Pro Pro Arg Pro Ala His Leu
 290 295 300

tgg cag cgc ccg ctc tag 930
 Trp Gln Arg Pro Leu
 305

<210> 24

<211> 309

<212> PRT

<213> Erwinia uredovora

<400> 24

Met Asn Asn Pro Ser Leu Leu Asn His Ala Val Glu Thr Met Ala Val
 1 5 10 15

Gly Ser Lys Ser Phe Ala Thr Ala Ser Lys Leu Phe Asp Ala Lys Thr
 20 25 30

Arg Arg Ser Val Leu Met Leu Tyr Ala Trp Cys Arg His Cys Asp Asp
 35 40 45

Val Ile Asp Asp Gln Thr Leu Gly Phe Gln Ala Arg Gln Pro Ala Leu
 50 55 60

Gln Thr Pro Glu Gln Arg Leu Met Gln Leu Glu Met Lys Thr Arg Gln
65 70 75 80

Ala Tyr Ala Gly Ser Gln Met His Glu Pro Ala Phe Ala Ala Phe Gln
85 90 95

Glu Val Ala Met Ala His Asp Ile Ala Pro Ala Tyr Ala Phe Asp His
100 105 110

Leu Glu Gly Phe Ala Met Asp Val Arg Glu Ala Gln Tyr Ser Gln Leu
115 120 125

Asp Asp Thr Leu Arg Tyr Cys Tyr His Val Ala Gly Val Val Gly Leu
130 135 140

Met Met Ala Gln Ile Met Gly Val Arg Asp Asn Ala Thr Leu Asp Arg
145 150 155 160

Ala Cys Asp Leu Gly Leu Ala Phe Gln Leu Thr Asn Ile Ala Arg Asp
165 170 175

Ile Val Asp Asp Ala His Ala Gly Arg Cys Tyr Leu Pro Ala Ser Trp
180 185 190

Leu Glu His Glu Gly Leu Asn Lys Glu Asn Tyr Ala Ala Pro Glu Asn
195 200 205

Arg Gln Ala Leu Ser Arg Ile Ala Arg Arg Leu Val Gln Glu Ala Glu
210 215 220

Pro Tyr Tyr Leu Ser Ala Thr Ala Gly Leu Ala Gly Leu Pro Leu Arg
225 230 235 240

Ser Ala Trp Ala Ile Ala Thr Ala Lys Gln Val Tyr Arg Lys Ile Gly
245 250 255

Val Lys Val Glu Gln Ala Gly Gln Gln Ala Trp Asp Gln Arg Gln Ser
260 265 270

Thr Thr Thr Pro Glu Lys Leu Thr Leu Leu Leu Ala Ala Ser Gly Gln
275 280 285

Ala Leu Thr Ser Arg Met Arg Ala His Pro Pro Arg Pro Ala His Leu
290 295 300

Trp Gln Arg Pro Leu
305

<210> 25

<211> 1479

<212> DNA

<213> Erwinia uredovora

<220>

<221> CDS

<222> (1)...(1479)

<223>

<400> 25

atg aaa cca act acg gta att ggt gca ggc ttc ggt ggc ctg gca ctg
Met Lys Pro Thr Thr Val Ile Gly Ala Gly Phe Gly Gly Leu Ala Leu
1 5 10 15

48

gca att cgt cta caa gct gcg ggg atc ccc gtc tta ctg ctt gaa caa
Ala Ile Arg Leu Gln Ala Ala Gly Ile Pro Val Leu Leu Glu Gln
20 25 30

96

cgt gat aaa ccc ggc ggt cggt gct tat gtc tac gag gat cag ggg ttt
Arg Asp Lys Pro Gly Gly Arg Ala Tyr Val Tyr Glu Asp Gln Gly Phe
35 40 45

144

acc ttt gat gca ggc ccg acg gtt atc acc gat ccc agt gcc att gaa
Thr Phe Asp Ala Gly Pro Thr Val Ile Thr Asp Pro Ser Ala Ile Glu
50 55 60

192

gaa ctg ttt gca ctg gca gga aaa cag tta aaa gag tat gtc gaa ctg

240

Glu Leu Phe Ala Leu Ala Gly Lys Gln Leu Lys Glu Tyr Val Glu Leu			
65	70	75	80
ctg ccg gtt acg ccg ttt tac cgc ctg tgt tgg gag tca ggg aag gtc			288
Leu Pro Val Thr Pro Phe Tyr Arg Leu Cys Trp Glu Ser Gly Lys Val			
85	90		95
ttt aat tac gat aac gat caa acc cgg ctc gaa gcg cag att cag cag			336
Phe Asn Tyr Asp Asn Asp Gln Thr Arg Leu Glu Ala Gln Ile Gln Gln			
100	105		110
ttt aat ccc cgc gat gtc gaa ggt tat cgt cag ttt ctg gac tat tca			384
Phe Asn Pro Arg Asp Val Glu Gly Tyr Arg Gln Phe Leu Asp Tyr Ser			
115	120		125
cgc gcg gtg ttt aaa gaa ggc tat cta aag ctc ggt act gtc cct ttt			432
Arg Ala Val Phe Lys Glu Gly Tyr Leu Lys Leu Gly Thr Val Pro Phe			
130	135		140
tta tcg ttc aga gac atg ctt cgc gcc gca cct caa ctg gcg aaa ctg			480
Leu Ser Phe Arg Asp Met Leu Arg Ala Ala Pro Gln Leu Ala Lys Leu			
145	150		160
cag gca tgg aga agc gtt tac agt aag gtt gcc agt tac atc gaa gat			528
Gln Ala Trp Arg Ser Val Tyr Ser Lys Val Ala Ser Tyr Ile Glu Asp			
165	170		175
gaa cat ctg cgc cag gcg ttt tct ttc cac tcg ctg ttg gtg ggc ggc			576
Glu His Leu Arg Gln Ala Phe Ser Phe His Ser Leu Leu Val Gly Gly			
180	185		190
aat ccc ttc gcc acc tca tcc att tat acg ttg ata cac gcg ctg gag			624
Asn Pro Phe Ala Thr Ser Ser Ile Tyr Thr Leu Ile His Ala Leu Glu			
195	200		205
cgt gag tgg ggc gtc tgg ttt ccg cgt ggc ggc acc ggc gca tta gtt			672
Arg Glu Trp Gly Val Trp Phe Pro Arg Gly Gly Thr Gly Ala Leu Val			
210	215		220
cag ggg atg ata aag ctg ttt cag gat ctg ggt ggc gaa gtc gtg tta			720
Gln Gly Met Ile Lys Leu Phe Gln Asp Leu Gly Gly Glu Val Val Leu			
225	230		240
aac gcc aga gtc agc cat atg gaa acg aca gga aac aag att gaa gcc			768
Asn Ala Arg Val Ser His Met Glu Thr Thr Gly Asn Lys Ile Glu Ala			
245	250		255
gtg cat tta gag gac ggt cgc agg ttc ctg acg caa gcc gtc gcg tca			816
Val His Leu Glu Asp Gly Arg Arg Phe Leu Thr Gln Ala Val Ala Ser			
260	265		270
aat gca gat gtg gtt cat acc tat cgc gac ctg tta agc cag cac cct			864

Asn Ala Asp Val Val His Thr Tyr Arg Asp Leu Leu Ser Gln His Pro			
275	280	285	
gcc gcg gtt aag cag tcc aac aaa ctg cag act aag cgc atg agt aac			912
Ala Ala Val Lys Gln Ser Asn Lys Leu Gln Thr Lys Arg Met Ser Asn			
290	295	300	
tct ctg ttt gtg ctc tat ttt ggt ttg aat cac cat cat gat cag ctc			960
Ser Leu Phe Val Leu Tyr Phe Gly Leu Asn His His His Asp Gln Leu			
305	310	315	320
gcg cat cac acg gtt tgt ttc ggc ccg cgt tac cgc gag ctg att gac			1008
Ala His His Thr Val Cys Phe Gly Pro Arg Tyr Arg Glu Leu Ile Asp			
325	330	335	
gaa att ttt aat cat gat ggc ctc gca gag gac ttc tca ctt tat ctg			1056
Glu Ile Phe Asn His Asp Gly Leu Ala Glu Asp Phe Ser Leu Tyr Leu			
340	345	350	
cac gcg ccc tgt gtc acg gat tcg tca ctg gcg cct gaa ggt tgc ggc			1104
His Ala Pro Cys Val Thr Asp Ser Ser Leu Ala Pro Glu Gly Cys Gly			
355	360	365	
agt tac tat gtg ttg gcg ccg gtg ccg cat tta ggc acc gcg aac ctc			1152
Ser Tyr Tyr Val Leu Ala Pro Val Pro His Leu Gly Thr Ala Asn Leu			
370	375	380	
gac tgg acg gtt gag ggg cca aaa cta cgc gac cgt att ttt gcg tac			1200
Asp Trp Thr Val Glu Gly Pro Lys Leu Arg Asp Arg Ile Phe Ala Tyr			
385	390	395	400
ctt gag cag cat tac atg cct ggc tta cgg agt cag ctg gtc acg cac			1248
Leu Glu Gln His Tyr Met Pro Gly Leu Arg Ser Gln Leu Val Thr His			
405	410	415	
cg ^g atg ttt acg cc ^g ttt gat ttt cgc gac cag ctt aat gcc tat cat			1296
Arg Met Phe Thr Pro Phe Asp Phe Arg Asp Gln Leu Asn Ala Tyr His			
420	425	430	
ggc tca gcc ttt tct gtg gag ccc gtt ctt acc cag agc gcc tgg ttt			1344
Gly Ser Ala Phe Ser Val Glu Pro Val Leu Thr Gln Ser Ala Trp Phe			
435	440	445	
cg ^g cc ^g cat aac cgc gat aaa acc att act aat ctc tac ctg gtc ggc			1392
Arg Pro His Asn Arg Asp Lys Thr Ile Thr Asn Leu Tyr Leu Val Gly			
450	455	460	
gca ggc acg cat ccc ggc gca ggc att cct ggc gtc atc ggc tc ^g gca			1440
Ala Gly Thr His Pro Gly Ala Gly Ile Pro Gly Val Ile Gly Ser Ala			
465	470	475	480
aaa gcg aca gca ggt ttg atg ctg gag gat ctg ata tga			1479

63

Lys Ala Thr Ala Gly Leu Met Leu Glu Asp Leu Ile
485 490

<210> 26

<211> 492

<212> PRT

<213> Erwinia uredovora

<400> 26

Met Lys Pro Thr Thr Val Ile Gly Ala Gly Phe Gly Gly Leu Ala Leu
1 5 10 15

Ala Ile Arg Leu Gln Ala Ala Gly Ile Pro Val Leu Leu Leu Glu Gln
20 25 30

Arg Asp Lys Pro Gly Gly Arg Ala Tyr Val Tyr Glu Asp Gln Gly Phe
35 40 45

Thr Phe Asp Ala Gly Pro Thr Val Ile Thr Asp Pro Ser Ala Ile Glu
50 55 60

Glu Leu Phe Ala Leu Ala Gly Lys Gln Leu Lys Glu Tyr Val Glu Leu
65 70 75 80

Leu Pro Val Thr Pro Phe Tyr Arg Leu Cys Trp Glu Ser Gly Lys Val
85 90 95

Phe Asn Tyr Asp Asn Asp Gln Thr Arg Leu Glu Ala Gln Ile Gln Gln
100 105 110

Phe Asn Pro Arg Asp Val Glu Gly Tyr Arg Gln Phe Leu Asp Tyr Ser
115 120 125

Arg Ala Val Phe Lys Glu Gly Tyr Leu Lys Leu Gly Thr Val Pro Phe
130 135 140

Leu Ser Phe Arg Asp Met Leu Arg Ala Ala Pro Gln Leu Ala Lys Leu
145 150 155 160

Gln Ala Trp Arg Ser Val Tyr Ser Lys Val Ala Ser Tyr Ile Glu Asp
165 170 175

Glu His Leu Arg Gln Ala Phe Ser Phe His Ser Leu Leu Val Gly Gly
180 185 190

Asn Pro Phe Ala Thr Ser Ser Ile Tyr Thr Leu Ile His Ala Leu Glu
195 200 205

Arg Glu Trp Gly Val Trp Phe Pro Arg Gly Gly Thr Gly Ala Leu Val
210 215 220

Gln Gly Met Ile Lys Leu Phe Gln Asp Leu Gly Gly Glu Val Val Leu
225 230 235 240

Asn Ala Arg Val Ser His Met Glu Thr Thr Gly Asn Lys Ile Glu Ala
245 250 255

Val His Leu Glu Asp Gly Arg Arg Phe Leu Thr Gln Ala Val Ala Ser
260 265 270

Asn Ala Asp Val Val His Thr Tyr Arg Asp Leu Leu Ser Gln His Pro
275 280 285

Ala Ala Val Lys Gln Ser Asn Lys Leu Gln Thr Lys Arg Met Ser Asn
290 295 300

Ser Leu Phe Val Leu Tyr Phe Gly Leu Asn His His His Asp Gln Leu
305 310 315 320

Ala His His Thr Val Cys Phe Gly Pro Arg Tyr Arg Glu Leu Ile Asp
325 330 335

Glu Ile Phe Asn His Asp Gly Leu Ala Glu Asp Phe Ser Leu Tyr Leu
340 345 350

65

His Ala Pro Cys Val Thr Asp Ser Ser Leu Ala Pro Glu Gly Cys Gly
355 360 365

Ser Tyr Tyr Val Leu Ala Pro Val Pro His Leu Gly Thr Ala Asn Leu
370 375 380

Asp Trp Thr Val Glu Gly Pro Lys Leu Arg Asp Arg Ile Phe Ala Tyr
385 390 395 400

Leu Glu Gln His Tyr Met Pro Gly Leu Arg Ser Gln Leu Val Thr His
405 410 415

Arg Met Phe Thr Pro Phe Asp Phe Arg Asp Gln Leu Asn Ala Tyr His
420 425 430

Gly Ser Ala Phe Ser Val Glu Pro Val Leu Thr Gln Ser Ala Trp Phe
435 440 445

Arg Pro His Asn Arg Asp Lys Thr Ile Thr Asn Leu Tyr Leu Val Gly
450 455 460

Ala Gly Thr His Pro Gly Ala Gly Ile Pro Gly Val Ile Gly Ser Ala
465 470 475 480

Lys Ala Thr Ala Gly Leu Met Leu Glu Asp Leu Ile
485 490

<210> 27

<211> 1725

<212> DNA

<213> Narcissus pseudonarcissus

<220>

<221> CDS

<222> (1)...(1725)

<223>

<400> 27				
atg gct tct tcc act tgt tta att cat tct tcc tct ttt ggg gtt gga				48
Met Ala Ser Ser Thr Cys Leu Ile His Ser Ser Ser Phe Gly Val Gly				
1	5	10	15	
gga aag aaa gtg aag aac acg att cga tcg aag ttg ttt tca				96
Gly Lys Lys Val Lys Met Asn Thr Met Ile Arg Ser Lys Leu Phe Ser				
20	25	30		
att cgg tcg gct ttg gac act aag gtg tct gat atg agc gtc aat gct				144
Ile Arg Ser Ala Leu Asp Thr Lys Val Ser Asp Met Ser Val Asn Ala				
35	40	45		
cca aaa gga ttg ttt cca cca gag cct gag cac tac agg ggg cca aag				192
Pro Lys Gly Leu Phe Pro Pro Glu Pro Glu His Tyr Arg Gly Pro Lys				
50	55	60		
ctt aaa gtg gct atc att gga gct ggg ctc gct ggc atg tca act gca				240
Leu Lys Val Ala Ile Ile Gly Ala Gly Leu Ala Gly Met Ser Thr Ala				
65	70	75	80	
gtg gag ctt ttg gat caa ggg cat gag gtt gac ata tat gaa tcc aga				288
Val Glu Leu Leu Asp Gln Gly His Glu Val Asp Ile Tyr Glu Ser Arg				
85	90	95		
caa ttt att ggt ggt aaa gtc ggt tct ttt gta gat aag cgt gga aac				336
Gln Phe Ile Gly Gly Lys Val Gly Ser Phe Val Asp Lys Arg Gly Asn				
100	105	110		
cat att gaa atg gga ctc cat gtg ttt ggt tgc tat aac aat ctt				384
His Ile Glu Met Gly Leu His Val Phe Phe Gly Cys Tyr Asn Asn Leu				
115	120	125		
ttc aga ctt atg aaa aag gta ggt gca gat gaa aat tta ctg gtg aag				432
Phe Arg Leu Met Lys Lys Val Gly Ala Asp Glu Asn Leu Leu Val Lys				
130	135	140		
gat cat act cat acc ttt gta aac cga ggt gga gaa att ggt gaa ctt				480
Asp His Thr His Thr Phe Val Asn Arg Gly Gly Glu Ile Gly Glu Leu				
145	150	155	160	
gat ttc cga ctt ccg atg ggt gca cca tta cat ggt att cgt gca ttt				528
Asp Phe Arg Leu Pro Met Gly Ala Pro Leu His Gly Ile Arg Ala Phe				
165	170	175		
cta aca act aat caa ctg aag cct tat gat aaa gca agg aat gct gtg				576
Leu Thr Thr Asn Gln Leu Lys Pro Tyr Asp Lys Ala Arg Asn Ala Val				
180	185	190		

gct ctt gcc ctt agc cca gtt gta cgt gct ctt att gat cca aat ggt Ala Leu Ala Leu Ser Pro Val Val Arg Ala Leu Ile Asp Pro Asn Gly 195 200 205	624
gca atg cag gat ata agg aac tta gat aat att agc ttt tct gat tgg Ala Met Gln Asp Ile Arg Asn Leu Asp Asn Ile Ser Phe Ser Asp Trp 210 215 220	672
tcc tta tcc aaa ggc ggt acc cgc atg agc atc caa agg atg tgg gat Phe Leu Ser Lys Gly Gly Thr Arg Met Ser Ile Gln Arg Met Trp Asp 225 230 235 240	720
cca gtt gct tat gcc ctc gga ttt att gac tgt gat aat atc agt gcc Pro Val Ala Tyr Ala Leu Gly Phe Ile Asp Cys Asp Asn Ile Ser Ala 245 250 255	768
cgt tgt atg ctt act ata ttt tct cta ttt gct act aag aca gaa gct Arg Cys Met Leu Thr Ile Phe Ser Leu Phe Ala Thr Lys Thr Glu Ala 260 265 270	816
tct ctg ttg cgt atg ttg aag ggt tcg cct gat gtt tac tta agc ggt Ser Leu Leu Arg Met Leu Lys Gly Ser Pro Asp Val Tyr Leu Ser Gly 275 280 285	864
cct ata aga aag tat att aca gat aaa ggt gga agg ttt cac cta agg Pro Ile Arg Lys Tyr Ile Thr Asp Lys Gly Arg Phe His Leu Arg 290 295 300	912
tgg ggg tgt aga gag ata ctt tat gat gaa cta tca aat ggc gac aca Trp Gly Cys Arg Glu Ile Leu Tyr Asp Glu Leu Ser Asn Gly Asp Thr 305 310 315 320	960
tat atc aca ggc att gca atg tcg aag gct acc aat aaa aaa ctt gtg Tyr Ile Thr Gly Ile Ala Met Ser Lys Ala Thr Asn Lys Lys Leu Val 325 330 335	1008
aaa gct gac gtg tat gtt gca gca tgt gat gtt cct gga ata aaa agg Lys Ala Asp Val Tyr Val Ala Ala Cys Asp Val Pro Gly Ile Lys Arg 340 345 350	1056
ttg atc cca tcg gag tgg aga gaa tgg gat cta ttt gac aat atc tat Leu Ile Pro Ser Glu Trp Arg Glu Trp Asp Leu Phe Asp Asn Ile Tyr 355 360 365	1104
aaa cta gtt gga gtt cca gtt gtc act gtt cag ctt agg tac aat ggt Lys Leu Val Gly Val Pro Val Val Thr Val Gln Leu Arg Tyr Asn Gly 370 375 380	1152
tgg gtg aca gag atg caa gat ctg gaa aaa tca agg cag ttg aga gct Trp Val Thr Glu Met Gln Asp Leu Glu Lys Ser Arg Gln Leu Arg Ala 385 390 395 400	1200

gca gta gga ttg gat aat ctt ctt tat act cca gat gca gac ttt tct		1248	
Ala Val Gly Leu Asp Asn Leu Leu Tyr Thr Pro Asp Ala Asp Phe Ser			
405	410	415	
tgt ttt tct gat ctt gca ctc tcg tcg cct gaa gat tat tat att gaa		1296	
Cys Phe Ser Asp Leu Ala Leu Ser Ser Pro Glu Asp Tyr Tyr Ile Glu			
420	425	430	
gga caa ggg tcc cta ata cag gct gtt ctc acg cca ggg gat cca tac		1344	
Gly Gln Gly Ser Leu Ile Gln Ala Val Leu Thr Pro Gly Asp Pro Tyr			
435	440	445	
atg ccc cta cct aat gat gca att ata gaa aga gtt cggtt aaa cag gtt		1392	
Met Pro Leu Pro Asn Asp Ala Ile Glu Arg Val Arg Lys Gln Val			
450	455	460	
ttg gat tta ttc cca tcc tct caa ggc ctg gaa gtt cta tgg tct tcg		1440	
Leu Asp Leu Phe Pro Ser Ser Gln Gly Leu Glu Val Leu Trp Ser Ser			
465	470	475	480
gtg gtt aaa atc gga caa tcc cta tat cggtt gag ggg cct gga aag gac		1488	
Val Val Lys Ile Gly Gln Ser Leu Tyr Arg Glu Gly Pro Gly Lys Asp			
485	490	495	
cca ttc aga cct gat cag aag aca cca gta aaa aat ttc ttc ctt gca		1536	
Pro Phe Arg Pro Asp Gln Lys Thr Pro Val Lys Asn Phe Phe Leu Ala			
500	505	510	
ggt tca tac acc aaa cag gat tac att gac agt atg gaa gga gcg acc		1584	
Gly Ser Tyr Thr Lys Gln Asp Tyr Ile Asp Ser Met Glu Gly Ala Thr			
515	520	525	
cta tcg ggg aga caa gca gct gca tat atc tgc agc gcc ggt gaa gat		1632	
Leu Ser Gly Arg Gln Ala Ala Ala Tyr Ile Cys Ser Ala Gly Glu Asp			
530	535	540	
ctg gca gca ctt cgc aag aag atc gct gct gat cat cca gag caa ctg		1680	
Leu Ala Ala Leu Arg Lys Lys Ile Ala Ala Asp His Pro Glu Gln Leu			
545	550	555	560
atc aac aaa gat tct aac gtg tcg gat gaa ctg agt ctc gta taa		1725	
Ile Asn Lys Asp Ser Asn Val Ser Asp Glu Leu Ser Leu Val			
565	570		

<210> 28

<211> 574

<212> PRT

<213> Narcissus pseudonarcissus

<400> 28

Met Ala Ser Ser Thr Cys Leu Ile His Ser Ser Ser Phe Gly Val Gly
1 5 10 15

Gly Lys Lys Val Lys Met Asn Thr Met Ile Arg Ser Lys Leu Phe Ser
20 25 30

Ile Arg Ser Ala Leu Asp Thr Lys Val Ser Asp Met Ser Val Asn Ala
35 40 45

Pro Lys Gly Leu Phe Pro Pro Glu Pro Glu His Tyr Arg Gly Pro Lys
50 55 60

Leu Lys Val Ala Ile Ile Gly Ala Gly Leu Ala Gly Met Ser Thr Ala
65 70 75 80

Val Glu Leu Leu Asp Gln Gly His Glu Val Asp Ile Tyr Glu Ser Arg
85 90 95

Gln Phe Ile Gly Gly Lys Val Gly Ser Phe Val Asp Lys Arg Gly Asn
100 105 110

His Ile Glu Met Gly Leu His Val Phe Phe Gly Cys Tyr Asn Asn Leu
115 120 125

Phe Arg Leu Met Lys Lys Val Gly Ala Asp Glu Asn Leu Leu Val Lys
130 135 140

Asp His Thr His Thr Phe Val Asn Arg Gly Gly Glu Ile Gly Glu Leu
145 150 155 160

Asp Phe Arg Leu Pro Met Gly Ala Pro Leu His Gly Ile Arg Ala Phe
165 170 175

Leu Thr Thr Asn Gln Leu Lys Pro Tyr Asp Lys Ala Arg Asn Ala Val
180 185 190

Ala Leu Ala Leu Ser Pro Val Val Arg Ala Leu Ile Asp Pro Asn Gly
195 200 205

Ala Met Gln Asp Ile Arg Asn Leu Asp Asn Ile Ser Phe Ser Asp Trp
210 215 220

Phe Leu Ser Lys Gly Gly Thr Arg Met Ser Ile Gln Arg Met Trp Asp
225 230 235 240

Pro Val Ala Tyr Ala Leu Gly Phe Ile Asp Cys Asp Asn Ile Ser Ala
245 250 255

Arg Cys Met Leu Thr Ile Phe Ser Leu Phe Ala Thr Lys Thr Glu Ala
260 265 270

Ser Leu Leu Arg Met Leu Lys Gly Ser Pro Asp Val Tyr Leu Ser Gly
275 280 285

Pro Ile Arg Lys Tyr Ile Thr Asp Lys Gly Gly Arg Phe His Leu Arg
290 295 300

Trp Gly Cys Arg Glu Ile Leu Tyr Asp Glu Leu Ser Asn Gly Asp Thr
305 310 315 320

Tyr Ile Thr Gly Ile Ala Met Ser Lys Ala Thr Asn Lys Lys Leu Val
325 330 335

Lys Ala Asp Val Tyr Val Ala Ala Cys Asp Val Pro Gly Ile Lys Arg
340 345 350

Leu Ile Pro Ser Glu Trp Arg Glu Trp Asp Leu Phe Asp Asn Ile Tyr
355 360 365

Lys Leu Val Gly Val Pro Val Val Thr Val Gln Leu Arg Tyr Asn Gly
370 375 380

Trp Val Thr Glu Met Gln Asp Leu Glu Lys Ser Arg Gln Leu Arg Ala
385 390 395 400

Ala Val Gly Leu Asp Asn Leu Leu Tyr Thr Pro Asp Ala Asp Phe Ser
405 410 415

Cys Phe Ser Asp Leu Ala Leu Ser Ser Pro Glu Asp Tyr Tyr Ile Glu
420 , 425 430

Gly Gln Gly Ser Leu Ile Gln Ala Val Leu Thr Pro Gly Asp Pro Tyr
435 440 445

Met Pro Leu Pro Asn Asp Ala Ile Ile Glu Arg Val Arg Lys Gln Val
450 455 460

Leu Asp Leu Phe Pro Ser Ser Gln Gly Leu Glu Val Leu Trp Ser Ser
465 470 475 480

Val Val Lys Ile Gly Gln Ser Leu Tyr Arg Glu Gly Pro Gly Lys Asp
485 490 495

Pro Phe Arg Pro Asp Gln Lys Thr Pro Val Lys Asn Phe Phe Leu Ala
500 505 510

Gly Ser Tyr Thr Lys Gln Asp Tyr Ile Asp Ser Met Glu Gly Ala Thr
515 520 525

Leu Ser Gly Arg Gln Ala Ala Ala Tyr Ile Cys Ser Ala Gly Glu Asp
530 535 540

Leu Ala Ala Leu Arg Lys Lys Ile Ala Ala Asp His Pro Glu Gln Leu
545 550 555 560

Ile Asn Lys Asp Ser Asn Val Ser Asp Glu Leu Ser Leu Val
565 570

<210> 29

<211> 1848

<212> DNA

<213> *Lycopersicon esculentum*

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(1848)

<223>

<400> 29				48
atg tgc acc ttg agt ttt atg tat cct aat tca ctt ctt gat ggt acc	Met Cys Thr Leu Ser Phe Met Tyr Pro Asn Ser Leu Leu Asp Gly Thr			
1 5 10 15				
tgc aag act gta gct ttg ggt gat agc aaa cca aga tac aat aaa cag	Cys Lys Thr Val Ala Leu Gly Asp Ser Lys Pro Arg Tyr Asn Lys Gln			96
20 25 30				
aga agt tct tgt ttt gac cct ttg ata att gga aat tgt act gat cag	Arg Ser Ser Cys Phe Asp Pro Leu Ile Ile Gly Asn Cys Thr Asp Gln			144
35 40 45				
cag cag ctt tgt ggc ttg agt tgg ggg gtg gac aag gct aag gga aga	Gln Gln Leu Cys Gly Leu Ser Trp Gly Val Asp Lys Ala Lys Gly Arg			192
50 55 60				
aga ggg ggt act gtt tcc aat ttg aaa gca gtt gta gat gta gac aaa	Arg Gly Gly Thr Val Ser Asn Leu Lys Ala Val Val Asp Val Asp Lys			240
65 70 75 80				
aga gtg gag agc tat ggc agt agt gat gta gaa gga aat gag agt ggc	Arg Val Glu Ser Tyr Gly Ser Ser Asp Val Glu Gly Asn Glu Ser Gly			288
85 90 95				
agc tat gat gcc att gtt ata ggt tca gga ata ggt gga ttg gtg gca	Ser Tyr Asp Ala Ile Val Ile Gly Ser Gly Ile Gly Gly Leu Val Ala			336
100 105 110				
gcg acg cag ctg gcg gtt aag gga gct aag gtt tta gtt ctg gag aag	Ala Thr Gln Leu Ala Val Lys Gly Ala Lys Val Leu Val Leu Glu Lys			384
115 120 125				
tat gtt att cct ggt gga agc tct ggc ttt tac gag agg qat ggt tat	Tyr Val Ile Pro Gly Gly Ser Ser Gly Phe Tyr Glu Arg Asp Gly Tyr			432
130 135 140				
aag ttt gat gtt ggt tca tca gtg atg ttt gga ttc agt gat aag gga				480

Lys Phe Asp Val Gly Ser Ser Val Met Phe Gly Phe Ser Asp Lys Gly				
145	150	155	160	
aac ctc aat tta att actcaa gca ttg gca gca gta gga cgt aaa tta				528
Asn Leu Asn Leu Ile Thr Gln Ala Leu Ala Ala Val Gly Arg Lys Leu				
165	170	175		
gaa gtt ata cct gac cca aca act gta cat ttc cac ctg cca aat gac				576
Glu Val Ile Pro Asp Pro Thr Thr Val His Phe His Leu Pro Asn Asp				
180	185	190		
ctt tct gtt cgt ata cac cga gag tat gat gac ttc att gaa gag ctt				624
Leu Ser Val Arg Ile His Arg Glu Tyr Asp Asp Phe Ile Glu Glu Leu				
195	200	205		
gtg agt aaa ttt cca cat gaa aag gaa ggg att atc aaa ttt tac agt				672
Val Ser Lys Phe Pro His Glu Lys Glu Gly Ile Ile Lys Phe Tyr Ser				
210	215	220		
gaa tgc tgg aag atc ttt aat tct ctg aat tca ttg gaa ctg aag tct				720
Glu Cys Trp Lys Ile Phe Asn Ser Leu Asn Ser Leu Glu Leu Lys Ser				
225	230	235	240	
ttg gag gaa ccc atc tac ctt ttt ggc cag ttc ttt aag aag ccc ctt				768
Leu Glu Glu Pro Ile Tyr Leu Phe Gly Gln Phe Phe Lys Lys Pro Leu				
245	250	255		
gaa tgc ttg act ctt gcc tac tat ttg ccc cag aat gct ggt agc atc				816
Glu Cys Leu Thr Leu Ala Tyr Tyr Leu Pro Gln Asn Ala Gly Ser Ile				
260	265	270		
gct cgg aag tat ata aga gat cct ggg ttg ctg tct ttt ata gat gca				864
Ala Arg Lys Tyr Ile Arg Asp Pro Gly Leu Leu Ser Phe Ile Asp Ala				
275	280	285		
gag tgc ttt atc gtg agt aca gtt aat gca tta caa aca cca atg atc				912
Glu Cys Phe Ile Val Ser Thr Val Asn Ala Leu Gln Thr Pro Met Ile				
290	295	300		
aat gca agc atg gtt cta tgt gac aga cat ttt ggc gga atc aac tac				960
Asn Ala Ser Met Val Leu Cys Asp Arg His Phe Gly Gly Ile Asn Tyr				
305	310	315	320	
ccc gtt ggt gga gtt ggc gag atc gcc aaa tcc tta gca aaa ggc ttg				1008
Pro Val Gly Gly Val Gly Glu Ile Ala Lys Ser Leu Ala Lys Gly Leu				
325	330	335		
gat gat cac gga agt cag ata ctt tat agg gca aat gtt aca agt atc				1056
Asp Asp His Gly Ser Gln Ile Leu Tyr Arg Ala Asn Val Thr Ser Ile				
340	345	350		
att ttg gac aat ggc aaa gct gtg gga gtg aag ctt tct gac ggg agg				1104

Ile Leu Asp Asn Gly Lys Ala Val Gly Val Lys Leu Ser Asp Gly Arg			
355	360	365	
aag ttt tat gct aaa acc ata gta tcg aat gct acc aga tgg gat act			1152
Lys Phe Tyr Ala Lys Thr Ile Val Ser Asn Ala Thr Arg Trp Asp Thr			
370	375	380	
ttt gga aag ctt tta aaa gct gag aat ctg cca aaa gaa gaa gaa aat			1200
Phe Gly Lys Leu Leu Lys Ala Glu Asn Leu Pro Lys Glu Glu Asn			
385	390	395	400
ttc cag aaa gct tat gta aaa gca cct tct ttt ctt tct att cat atg			1248
Phe Gln Lys Ala Tyr Val Lys Ala Pro Ser Phe Leu Ser Ile His Met			
405	410	415	
gga gtt aaa gca gat gta ctc cca cca gac aca gat tgt cac cat ttt			1296
Gly Val Lys Ala Asp Val Leu Pro Pro Asp Thr Asp Cys His His Phe			
420	425	430	
gtc ctc gag gat gat tgg aca aat ttg gag aaa cca tat gga agt ata			1344
Val Leu Glu Asp Asp Trp Thr Asn Leu Glu Lys Pro Tyr Gly Ser Ile			
435	440	445	
ttc ttg agt att cca aca gtt ctt gat tcc tca ttg gcc cca gaa gga			1392
Phe Leu Ser Ile Pro Thr Val Leu Asp Ser Ser Leu Ala Pro Glu Gly			
450	455	460	
cac cat att ctt cac att ttt aca aca tcg agc att gaa gat tgg gag			1440
His His Ile Leu His Ile Phe Thr Thr Ser Ser Ile Glu Asp Trp Glu			
465	470	475	480
gga ctc tct ccg aaa gac tat gaa gcg aag aaa gag gtt gtt gct gaa			1488
Gly Leu Ser Pro Lys Asp Tyr Glu Ala Lys Lys Glu Val Val Ala Glu			
485	490	495	
agg att ata agc aga ctt gaa aaa aca ctc ttc cca ggg ctt aag tca			1536
Arg Ile Ile Ser Arg Leu Glu Lys Thr Leu Phe Pro Gly Leu Lys Ser			
500	505	510	
tct att ctc ttt aag gag gtg gga act cca aag acc cac aga cga tac			1584
Ser Ile Leu Phe Lys Glu Val Gly Thr Pro Lys Thr His Arg Arg Tyr			
515	520	525	
ctt gct cgt gat agt ggt acc tat gga cca atg cca cgc gga aca cct			1632
Leu Ala Arg Asp Ser Gly Thr Tyr Gly Pro Met Pro Arg Gly Thr Pro			
530	535	540	
aag gga ctc ctg gga atg cct ttc aat acc act gct ata gat ggt cta			1680
Lys Gly Leu Leu Gly Met Pro Phe Asn Thr Ala Ile Asp Gly Leu			
545	550	555	560
tat tgt gtt ggc gat agt tgc ttc cca gga caa ggt gtt ata gct gta			1728

75

Tyr Cys Val Gly Asp Ser Cys Phe Pro Gly Gln Gly Val Ile Ala Val
 565 570 575

gcc ttt tca gga gta atg tgc gct cat cgt gtt gca gct gac tta ggg 1776
 Ala Phe Ser Gly Val Met Cys Ala His Arg Val Ala Ala Asp Leu Gly
 580 585 590

ttt gaa aaa aaa tca gat gtg ctg gac agt gct ctt ctt aga cta ctt 1824
 Phe Glu Lys Lys Ser Asp Val Leu Asp Ser Ala Leu Leu Arg Leu Leu
 595 600 605

ggt tgg tta agg aca cta gca tga 1848
 Gly Trp Leu Arg Thr Leu Ala
 610 615

<210> 30

<211> 615

<212> PRT

<213> Lycopersicon esculentum

<400> 30

Met Cys Thr Leu Ser Phe Met Tyr Pro Asn Ser Leu Leu Asp Gly Thr
 1 5 10 15

Cys Lys Thr Val Ala Leu Gly Asp Ser Lys Pro Arg Tyr Asn Lys Gln
 20 25 30

Arg Ser Ser Cys Phe Asp Pro Leu Ile Ile Gly Asn Cys Thr Asp Gln
 35 40 45

Gln Gln Leu Cys Gly Leu Ser Trp Gly Val Asp Lys Ala Lys Gly Arg
 50 55 60

Arg Gly Gly Thr Val Ser Asn Leu Lys Ala Val Val Asp Val Asp Lys
 65 70 75 80

Arg Val Glu Ser Tyr Gly Ser Ser Asp Val Glu Gly Asn Glu Ser Gly
 85 90 95

Ser Tyr Asp Ala Ile Val Ile Gly Ser Gly Ile Gly Gly Leu Val Ala
100 105 110

Ala Thr Gln Leu Ala Val Lys Gly Ala Lys Val Leu Val Leu Glu Lys
115 120 125

Tyr Val Ile Pro Gly Gly Ser Ser Gly Phe Tyr Glu Arg Asp Gly Tyr
130 135 140

Lys Phe Asp Val Gly Ser Ser Val Met Phe Gly Phe Ser Asp Lys Gly
145 150 155 160

Asn Leu Asn Leu Ile Thr Gln Ala Leu Ala Ala Val Gly Arg Lys Leu
165 170 175

Glu Val Ile Pro Asp Pro Thr Thr Val His Phe His Leu Pro Asn Asp
180 185 190

Leu Ser Val Arg Ile His Arg Glu Tyr Asp Asp Phe Ile Glu Glu Leu
195 200 205

Val Ser Lys Phe Pro His Glu Lys Glu Gly Ile Ile Lys Phe Tyr Ser
210 215 220

Glu Cys Trp Lys Ile Phe Asn Ser Leu Asn Ser Leu Glu Leu Lys Ser
225 230 235 240

Leu Glu Glu Pro Ile Tyr Leu Phe Gly Gln Phe Phe Lys Lys Pro Leu
245 250 255

Glu Cys Leu Thr Leu Ala Tyr Tyr Leu Pro Gln Asn Ala Gly Ser Ile
260 265 270

Ala Arg Lys Tyr Ile Arg Asp Pro Gly Leu Leu Ser Phe Ile Asp Ala
275 280 285

Glu Cys Phe Ile Val Ser Thr Val Asn Ala Leu Gln Thr Pro Met Ile
290 295 300

Asn Ala Ser Met Val Leu Cys Asp Arg His Phe Gly Gly Ile Asn Tyr
305 310 315 320

Pro Val Gly Gly Val Gly Glu Ile Ala Lys Ser Leu Ala Lys Gly Leu
325 330 335

Asp Asp His Gly Ser Gln Ile Leu Tyr Arg Ala Asn Val Thr Ser Ile
340 345 350

Ile Leu Asp Asn Gly Lys Ala Val Gly Val Lys Leu Ser Asp Gly Arg
355 360 365

Lys Phe Tyr Ala Lys Thr Ile Val Ser Asn Ala Thr Arg Trp Asp Thr
370 375 380

Phe Gly Lys Leu Leu Lys Ala Glu Asn Leu Pro Lys Glu Glu Glu Asn
385 390 395 400

Phe Gln Lys Ala Tyr Val Lys Ala Pro Ser Phe Leu Ser Ile His Met
405 410 415

Gly Val Lys Ala Asp Val Leu Pro Pro Asp Thr Asp Cys His His Phe
420 425 430

Val Leu Glu Asp Asp Trp Thr Asn Leu Glu Lys Pro Tyr Gly Ser Ile
435 440 445

Phe Leu Ser Ile Pro Thr Val Leu Asp Ser Ser Leu Ala Pro Glu Gly
450 455 460

His His Ile Leu His Ile Phe Thr Thr Ser Ser Ile Glu Asp Trp Glu
465 470 475 480

Gly Leu Ser Pro Lys Asp Tyr Glu Ala Lys Lys Glu Val Val Ala Glu
485 490 495

Arg Ile Ile Ser Arg Leu Glu Lys Thr Leu Phe Pro Gly Leu Lys Ser
500 505 510

78

Ser Ile Leu Phe Lys Glu Val Gly Thr Pro Lys Thr His Arg Arg Tyr
515 520 525

Leu Ala Arg Asp Ser Gly Thr Tyr Gly Pro Met Pro Arg Gly Thr Pro
530 535 540

Lys Gly Leu Leu Gly Met Pro Phe Asn Thr Thr Ala Ile Asp Gly Leu
545 550 555 560

Tyr Cys Val Gly Asp Ser Cys Phe Pro Gly Gln Gly Val Ile Ala Val
565 570 575

Ala Phe Ser Gly Val Met Cys Ala His Arg Val Ala Ala Asp Leu Gly
580 585 590

Phe Glu Lys Lys Ser Asp Val Leu Asp Ser Ala Leu Leu Arg Leu Leu
595 600 605

Gly Trp Leu Arg Thr Leu Ala
610 615

<210> 31

<211> 1233

<212> DNA

<213> Tagetes erecta

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(1233)

<223>

<400> 31

atg gcc aca cac aaa ctc ctt caa ttc acc acc aat ctc cca cca tct
Met Ala Thr His Lys Leu Leu Gln Phe Thr Thr Asn Leu Pro Pro Ser
1 5 10 15

48

tct tct tca atc tct act ggc tgt tca ctc tcc ccc ttc ttc ctc aaa Ser Ser Ser Ile Ser Thr Gly Cys Ser Leu Ser Pro Phe Phe Leu Lys 20 25 30	96
tca tct tct cat tcc cct aac cct cgc cga cac cgc cgc tcc gcc gta Ser Ser Ser His Ser Pro Asn Pro Arg Arg His Arg Arg Ser Ala Val 35 40 45	144
tgc tgc tct ttc gcc tca ctc gac tct gca aaa atc aaa gtc gtt ggc Cys Cys Ser Phe Ala Ser Leu Asp Ser Ala Lys Ile Lys Val Val Gly 50 55 60	192
gtc ggt ggt ggt ggc aac aat gcc gtt aac cgc atg att ggt agc ggc Val Gly Gly Gly Asn Asn Ala Val Asn Arg Met Ile Gly Ser Gly 65 70 75 80	240
tta cag ggt gtt gat ttt tac gcc att aac acg gac tca caa gcg ctt Leu Gln Gly Val Asp Phe Tyr Ala Ile Asn Thr Asp Ser Gln Ala Leu 85 90 95	288
ctg caa tct gtt gca cat aac cct att caa att ggg gag ctt ttg act Leu Gln Ser Val Ala His Asn Pro Ile Gln Ile Gly Glu Leu Leu Thr 100 105 110	336
cgt gga tta ggt act ggt ggg aac ccg ctt ttg gga gaa cag gct gcg Arg Gly Leu Gly Thr Gly Gly Asn Pro Leu Leu Gly Glu Gln Ala Ala 115 120 125	384
gag gag tcg aag gaa gcg att ggg aat gcg ctt aaa ggg tcg gat ctt Glu Glu Ser Lys Glu Ala Ile Gly Asn Ala Leu Lys Gly Ser Asp Leu 130 135 140	432
gtg ttt ata aca gca ggt atg ggt ggg acg ggt tcg ggt gct gct Val Phe Ile Thr Ala Gly Met Gly Gly Thr Gly Ser Gly Ala Ala 145 150 155 160	480
cca gtt gta gcg cag ata gcg aaa gaa gca ggg tat tta act gtt ggt Pro Val Val Ala Gln Ile Ala Lys Glu Ala Gly Tyr Leu Thr Val Gly 165 170 175	528
gtt gta acg tac cca ttc agc ttt gaa ggc cgt aaa aga tca gta cag Val Val Thr Tyr Pro Phe Ser Phe Glu Gly Arg Lys Arg Ser Val Gln 180 185 190	576
gcg tta gag gct att gag aag ctg caa aag aac gtt gac aca ctt ata Ala Leu Glu Ala Ile Glu Lys Leu Gln Lys Asn Val Asp Thr Leu Ile 195 200 205	624
gtg att cca aat gac cgt ttg ctg gat att gct gat gaa aac acg cct Val Ile Pro Asn Asp Arg Leu Leu Asp Ile Ala Asp Glu Asn Thr Pro 210 215 220	672

ctt cag gat gct ttt ctt gct gat gat gta ctc cgc caa gga gtt		720	
Leu Gln Asp Ala Phe Leu Leu Ala Asp Asp Val Leu Arg Gln Gly Val			
225	230	235	240
caa gga atc tca gat ata att aca ata cct ggg ctg gta aat gtg gac		768	
Gln Gly Ile Ser Asp Ile Ile Thr Ile Pro Gly Leu Val Asn Val Asp			
245	250	255	
ttt gca gac gtt aaa gca gtc atg aaa gat tct gga act gca atg ctt		816	
Phe Ala Asp Val Lys Ala Val Met Lys Asp Ser Gly Thr Ala Met Leu			
260	265	270	
ggt gtc ggt gtt tcc tca agt aaa aac cga gct gaa gaa gca gct gaa		864	
Gly Val Gly Val Ser Ser Lys Asn Arg Ala Glu Glu Ala Ala Glu			
275	280	285	
caa gca act ctt gct cct ttg att gga tca tca att caa tct gct aca		912	
Gln Ala Thr Leu Ala Pro Leu Ile Gly Ser Ser Ile Gln Ser Ala Thr			
290	295	300	
ggt gtt tat aat att acc gga ggg aag gac ata act cta caa gaa		960	
Gly Val Val Tyr Asn Ile Thr Gly Gly Lys Asp Ile Thr Leu Gln Glu			
305	310	315	320
gtc aac agg gtt tct cag gtg gta aca agt ttg gca gat cca tca gca		1008	
Val Asn Arg Val Ser Gln Val Val Thr Ser Leu Ala Asp Pro Ser Ala			
325	330	335	
aac att ata ttc ggg gca gtg gta gat gag aga tac aac ggg gag att		1056	
Asn Ile Ile Phe Gly Ala Val Val Asp Glu Arg Tyr Asn Gly Glu Ile			
340	345	350	
cat gtg acc att gtt gct act ggc ttt gcc cag tcg ttt cag aaa tct		1104	
His Val Thr Ile Val Ala Thr Gly Phe Ala Gln Ser Phe Gln Lys Ser			
355	360	365	
ctt ctt gct gac ccg aaa gga gca aaa ctt gtt gat aga aat caa gaa		1152	
Leu Leu Ala Asp Pro Lys Gly Ala Lys Leu Val Asp Arg Asn Gln Glu			
370	375	380	
cct aca caa cct ttg act tcc gcg aga tct ttg aca aca cct tct cct		1200	
Pro Thr Gln Pro Leu Thr Ser Ala Arg Ser Leu Thr Thr Pro Ser Pro			
385	390	395	400
gct ccg tct cgg tct agg aaa ctc ttc ttt taa		1233	
Ala Pro Ser Arg Ser Arg Lys Leu Phe Phe			
405	410		

<211> 410

<212> PRT

<213> Tagetes erecta

<400> 32

Met Ala Thr His Lys Leu Leu Gln Phe Thr Thr Asn Leu Pro Pro Ser
1 5 10 15

Ser Ser Ser Ile Ser Thr Gly Cys Ser Leu Ser Pro Phe Phe Leu Lys
20 25 30

Ser Ser Ser His Ser Pro Asn Pro Arg Arg His Arg Arg Ser Ala Val
35 40 45

Cys Cys Ser Phe Ala Ser Leu Asp Ser Ala Lys Ile Lys Val Val Gly
50 55 60

Val Gly Gly Gly Asn Asn Ala Val Asn Arg Met Ile Gly Ser Gly
65 70 75 80

Leu Gln Gly Val Asp Phe Tyr Ala Ile Asn Thr Asp Ser Gln Ala Leu
85 90 95

Leu Gln Ser Val Ala His Asn Pro Ile Gln Ile Gly Glu Leu Leu Thr
100 105 110

Arg Gly Leu Gly Thr Gly Gly Asn Pro Leu Leu Gly Glu Gln Ala Ala
115 120 125

Glu Glu Ser Lys Glu Ala Ile Gly Asn Ala Leu Lys Gly Ser Asp Leu
130 135 140

Val Phe Ile Thr Ala Gly Met Gly Gly Thr Gly Ser Gly Ala Ala
145 150 155 160

Pro Val Val Ala Gln Ile Ala Lys Glu Ala Gly Tyr Leu Thr Val Gly
165 170 175

Val Val Thr Tyr Pro Phe Ser Phe Glu Gly Arg Lys Arg Ser Val Gln
180 185 190

Ala Leu Glu Ala Ile Glu Lys Leu Gln Lys Asn Val Asp Thr Leu Ile
195 200 205

Val Ile Pro Asn Asp Arg Leu Leu Asp Ile Ala Asp Glu Asn Thr Pro
210 215 220

Leu Gln Asp Ala Phe Leu Leu Ala Asp Asp Val Leu Arg Gln Gly Val
225 230 235 240

Gln Gly Ile Ser Asp Ile Ile Thr Ile Pro Gly Leu Val Asn Val Asp
245 250 255

Phe Ala Asp Val Lys Ala Val Met Lys Asp Ser Gly Thr Ala Met Leu
260 265 270

Gly Val Gly Val Ser Ser Ser Lys Asn Arg Ala Glu Glu Ala Ala Glu
275 280 285

Gln Ala Thr Leu Ala Pro Leu Ile Gly Ser Ser Ile Gln Ser Ala Thr
290 295 300

Gly Val Val Tyr Asn Ile Thr Gly Gly Lys Asp Ile Thr Leu Gln Glu
305 310 315 320

Val Asn Arg Val Ser Gln Val Val Thr Ser Leu Ala Asp Pro Ser Ala
325 330 335

Asn Ile Ile Phe Gly Ala Val Val Asp Glu Arg Tyr Asn Gly Glu Ile
340 345 350

His Val Thr Ile Val Ala Thr Gly Phe Ala Gln Ser Phe Gln Lys Ser
355 360 365

Leu Leu Ala Asp Pro Lys Gly Ala Lys Leu Val Asp Arg Asn Gln Glu
370 375 380

Pro Thr Gln Pro Leu Thr Ser Ala Arg Ser Leu Thr Thr Pro Ser Pro
 385 390 395 400

Ala Pro Ser Arg Ser Arg Lys Leu Phe Phe
 405 410

<210> 33

<211> 891

<212> DNA

<213> Tagetes erecta

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(891)

<223>

<400> 33			
atg aca tcc ctg agg ttt cta aca gaa ccc tca ctt gta tgc tca tcc			48
Met Thr Ser Leu Arg Phe Leu Thr Glu Pro Ser Leu Val Cys Ser Ser			
1 5 10 15			
act ttc ccc aca ttc aat ccc cta cac aaa acc cta act aaa cca aca			96
Thr Phe Pro Thr Phe Asn Pro Leu His Lys Thr Leu Thr Lys Pro Thr			
20 25 30			
cca aaa ccc tac cca aag cca cca att cgc tcc gtc ctt caa tac			144
Pro Lys Pro Tyr Pro Lys Pro Pro Pro Ile Arg Ser Val Leu Gln Tyr			
35 40 45			
aat cgc aaa cca gag ctc gcc gga gac act cca cga gtc gtc gca atc			192
Asn Arg Lys Pro Glu Leu Ala Gly Asp Thr Pro Arg Val Val Ala Ile			
50 55 60			
gac gcc gac ggt cta cgt aac ctc gat ctt ctt ctc ggt ctc gaa			240
Asp Ala Asp Val Gly Leu Arg Asn Leu Asp Leu Leu Gly Leu Glu			
65 70 75 80			
aac cgc gtc aat tac acc gtc gtt gaa gtt ctc aac ggc gat tgc aga			288

Asn Arg Val Asn Tyr Thr Val Val Glu Val Leu Asn Gly Asp Cys Arg
 85 90 95

ctc gac caa gcc cta gtt cgt gat aaa cgc tgg tca aat ttc gaa ttg 336
 Leu Asp Gln Ala Leu Val Arg Asp Lys Arg Trp Ser Asn Phe Glu Leu
 100 105 110

ctt tgt att tca aaa cct agg tca aaa ttg cct tta gga ttt ggg gga 384
 Leu Cys Ile Ser Lys Pro Arg Ser Lys Leu Pro Leu Gly Phe Gly Gly
 115 120 125

aaa gct tta gtt tgg ctt gat gca tta aaa gat agg caa gaa ggt tgc 432
 Lys Ala Leu Val Trp Leu Asp Ala Leu Lys Asp Arg Gln Glu Gly Cys
 130 135 140

ccg gat ttt ata ctt ata gat tgt cct gca ggt att gat gcc ggg ttc 480
 Pro Asp Phe Ile Leu Ile Asp Cys Pro Ala Gly Ile Asp Ala Gly Phe
 145 150 155 160

ata acc gcc att aca ccg gct aac gaa gcc gta tta gtt aca aca cct 528
 Ile Thr Ala Ile Thr Pro Ala Asn Glu Ala Val Leu Val Thr Pro
 165 170 175

gat att act gca ttg aga gat gca gat aga gtt aca ggc ttg ctt gaa 576
 Asp Ile Thr Ala Leu Arg Asp Ala Asp Arg Val Thr Gly Leu Leu Glu
 180 185 190

tgt gat gga att agg gat att aaa atg att gtg aac aga gtt aga act 624
 Cys Asp Gly Ile Arg Asp Ile Lys Met Ile Val Asn Arg Val Arg Thr
 195 200 205

gat ttg ata agg ggt gaa gat atg atg tca gtt ctt gat gtt caa gag 672
 Asp Leu Ile Arg Gly Glu Asp Met Met Ser Val Leu Asp Val Gln Glu
 210 215 220

atg ttg gga ttg tca ttg ttg agt gat acc cga gga ttc gaa gtg att 720
 Met Leu Gly Leu Ser Leu Leu Ser Asp Thr Arg Gly Phe Glu Val Ile
 225 230 235 240

cgg agt acg aat aga ggg ttt ccg ctt gtg ttg aac aag cct ccg act 768
 Arg Ser Thr Asn Arg Gly Phe Pro Leu Val Leu Asn Lys Pro Pro Thr
 245 250 255

tta gca gga ttg gca ttt gag cag gct gct tgg aga ttg gtt gag caa 816
 Leu Ala Gly Leu Ala Phe Glu Gln Ala Ala Trp Arg Leu Val Glu Gln
 260 265 270

gat agc atg aag gct gtg atg gtg gag gaa gaa cct aaa aag agg gga 864
 Asp Ser Met Lys Ala Val Met Val Glu Glu Pro Lys Lys Arg Gly
 275 280 285

ttt ttc tcg ttt ttt gga ggt tag tga 891

Phe Phe Ser Phe Phe Gly Gly
290 295

<210> 34

<211> 295

<212> PRT

<213> Tagetes erecta

<400> 34

Met Thr Ser Leu Arg Phe Leu Thr Glu Pro Ser Leu Val Cys Ser Ser
1 5 10 15

Thr Phe Pro Thr Phe Asn Pro Leu His Lys Thr Leu Thr Lys Pro Thr
20 25 30

Pro Lys Pro Tyr Pro Lys Pro Pro Pro Ile Arg Ser Val Leu Gln Tyr
35 40 45

Asn Arg Lys Pro Glu Leu Ala Gly Asp Thr Pro Arg Val Val Ala Ile
50 55 60

Asp Ala Asp Val Gly Leu Arg Asn Leu Asp Leu Leu Leu Gly Leu Glu
65 70 75 80

Asn Arg Val Asn Tyr Thr Val Val Glu Val Leu Asn Gly Asp Cys Arg
85 90 95

Leu Asp Gln Ala Leu Val Arg Asp Lys Arg Trp Ser Asn Phe Glu Leu
100 105 110

Leu Cys Ile Ser Lys Pro Arg Ser Lys Leu Pro Leu Gly Phe Gly Gly
115 120 125

Lys Ala Leu Val Trp Leu Asp Ala Leu Lys Asp Arg Gln Glu Gly Cys
130 135 140

Pro Asp Phe Ile Leu Ile Asp Cys Pro Ala Gly Ile Asp Ala Gly Phe
145 150 155 160

Ile Thr Ala Ile Thr Pro Ala Asn Glu Ala Val Leu Val Thr Thr Pro
165 170 175

Asp Ile Thr Ala Leu Arg Asp Ala Asp Arg Val Thr Gly Leu Leu Glu
180 185 190

Cys Asp Gly Ile Arg Asp Ile Lys Met Ile Val Asn Arg Val Arg Thr
195 200 205

Asp Leu Ile Arg Gly Glu Asp Met Met Ser Val Leu Asp Val Gln Glu
210 215 220

Met Leu Gly Leu Ser Leu Leu Ser Asp Thr Arg Gly Phe Glu Val Ile
225 230 235 240

Arg Ser Thr Asn Arg Gly Phe Pro Leu Val Leu Asn Lys Pro Pro Thr
245 250 255

Leu Ala Gly Leu Ala Phe Glu Gln Ala Ala Trp Arg Leu Val Glu Gln
260 265 270

Asp Ser Met Lys Ala Val Met Val Glu Glu Glu Pro Lys Lys Arg Gly
275 280 285

Phe Phe Ser Phe Phe Gly Gly
290 295

<210> 35

<211> 1662

<212> DNA

<213> Haematococcus pluvialis

<220>

<221> CDS

<222> (168) .. (1130)

<223>

<400> 35
 cggggcaact caagaaattc aacagctgca agcgcgcccc agcctcacag cgccaaagtga 60
 gctatcgacg tggttgtgag cgctcgacgt ggtccactga cgggcctgtg agcctctg 120
 ctccgtcctc tgccaaatct cgcgtcgaaa cctgcctaag tcgaaga atg cac gtc 176
 Met His Val
 1
 gca tcg gca cta atg gtc gag cag aaa ggc agt gag gca gct gct tcc 224
 Ala Ser Ala Leu Met Val Glu Gln Lys Gly Ser Glu Ala Ala Ala Ser
 5 10 15
 agc cca gac gtc ttg aga gcg tgg gcg aca cag tat cac atg cca tcc 272
 Ser Pro Asp Val Leu Arg Ala Trp Ala Thr Gln Tyr His Met Pro Ser
 20 25 30 35
 gag tcg tca gac gca gct cgt cct gcg cta aag cac gcc tac aaa cct 320
 Glu Ser Ser Asp Ala Ala Arg Pro Ala Leu Lys His Ala Tyr Lys Pro
 40 45 50
 cca gca tct gac gcc aag ggc atc acg atg gcg ctg acc atc att ggc 368
 Pro Ala Ser Asp Ala Lys Gly Ile Thr Met Ala Leu Thr Ile Ile Gly
 55 60 65
 acc tgg acc gca gtg ttt tta cac gca ata tttcaa atc agg cta ccg 416
 Thr Trp Thr Ala Val Phe Leu His Ala Ile Phe Gln Ile Arg Leu Pro
 70 75 80
 aca tcc atg gac cag ctt cac tgg ttg cct gtg tcc gaa gcc aca gcc 464
 Thr Ser Met Asp Gln Leu His Trp Leu Pro Val Ser Glu Ala Thr Ala
 85 90 95
 cag ctt ttg ggc gga agc agc agc cta ctg cac atc gct gca gtc ttc 512
 Gln Leu Leu Gly Gly Ser Ser Ser Leu Leu His Ile Ala Ala Val Phe
 100 105 110 115
 att gta ctt gag ttc ctg tac act ggt cta ttc atc acc aca cat gac 560
 Ile Val Leu Glu Phe Leu Tyr Thr Gly Leu Phe Ile Thr Thr His Asp
 120 125 130
 gca atg cat ggc acc ata gct ttg agg cac agg cag ctc aat gat ctc 608
 Ala Met His Gly Thr Ile Ala Leu Arg His Arg Gln Leu Asn Asp Leu
 135 140 145

ctt ggc aac atc tgc ata tca ctg tac gcc tgg ttt gac tac agc atg 656
 Leu Gly Asn Ile Cys Ile Ser Leu Tyr Ala Trp Phe Asp Tyr Ser Met
 150 155 160

ctg cat cgc aag cac tgg gag cac cac aac cat act ggc gaa gtg ggg 704
 Leu His Arg Lys His Trp Glu His His Asn His Thr Gly Glu Val Gly
 165 170 175

aaa gac cct gac ttc cac aag gga aat ccc ggc ctt gtc ccc tgg ttc 752
 Lys Asp Pro Asp Phe His Lys Gly Asn Pro Gly Leu Val Pro Trp Phe
 180 185 190 195

gcc agc ttc atg tcc agc tac atg tcc ctg tgg cag ttt gcc cggttg 800
 Ala Ser Phe Met Ser Ser Tyr Met Ser Leu Trp Gln Phe Ala Arg Leu
 200 205 210

gca tgg tgg gca gtg gtg atg caa atg ctg ggg gcg ccc atg gca aat 848
 Ala Trp Trp Ala Val Val Met Gln Met Leu Gly Ala Pro Met Ala Asn
 215 220 225

ctc cta gtc ttc atg gct gca gcc cca atc ttg tca gca ttc cgc ctc 896
 Leu Leu Val Phe Met Ala Ala Pro Ile Leu Ser Ala Phe Arg Leu
 230 235 240

ttc tac ttc ggc act tac ctg cca cac aag cct gag cca ggc cct gca 944
 Phe Tyr Phe Gly Thr Tyr Leu Pro His Lys Pro Glu Pro Gly Pro Ala
 245 250 255

gca ggc tct cag gtg atg gcc tgg ttc agg gcc aag aca agt gag gca 992
 Ala Gly Ser Gln Val Met Ala Trp Phe Arg Ala Lys Thr Ser Glu Ala
 260 265 270 275

tct gat gtg atg agt ttc ctg aca tgc tac cac ttt gac ctg cac tgg 1040
 Ser Asp Val Met Ser Phe Leu Thr Cys Tyr His Phe Asp Leu His Trp
 280 285 290

gag cac cac agg tgg ccc ttt gcc ccc tgg tgg cag ctg ccc cac tgc 1088
 Glu His His Arg Trp Pro Phe Ala Pro Trp Trp Gln Leu Pro His Cys
 295 300 305

cgc cgc ctg tcc ggg cgt ggc ctg gtg cct gcc ttg gca tga 1130
 Arg Arg Leu Ser Gly Arg Gly Leu Val Pro Ala Leu Ala
 310 315 320

cctggccct ccgctggta cccagcgct gcacaagagt gtcatgctac agggtgctgc 1190

ggccagtggc agcgcagtgc actctcagcc tgtatgggc taccgctgtg ccactgagca 1250

ctggccatgc cactgagcac tggcgctgct actgagcaat gggcggtcta ctgagcaatg 1310

ggcgtgctac tgacaatggg cgtgctactg gggctggca gtggcttagga tggagttga 1370

tgcattcagt agcgggtggcc aacgtcatgt ggatggtgga agtgctgagg ggtttaggca 1430
gccggcattt gagagggcta agttataaaat cgcattgtgc tcatgcgcac atatctgcac 1490
acagccagg aaatcccttc gagagtgatt atgggacact tgtattggtt tcgtgctatt 1550
gttttattca gcagcagtac ttagtgaggg tgagagcagg gtggtgagag tggagtgagt 1610
gagtatgaac ctggtcagcg aggtgaacag cctgtaatga atgactctgt ct 1662

<210> 36

<211> 320

<212> PRT

<213> Haematococcus pluvialis

<400> 36

Met His Val Ala Ser Ala Leu Met Val Glu Gln Lys Gly Ser Glu Ala
1 5 10 15

Ala Ala Ser Ser Pro Asp Val Leu Arg Ala Trp Ala Thr Gln Tyr His
20 25 30

Met Pro Ser Glu Ser Ser Asp Ala Ala Arg Pro Ala Leu Lys His Ala
35 40 45

Tyr Lys Pro Pro Ala Ser Asp Ala Lys Gly Ile Thr Met Ala Leu Thr
50 55 60

Ile Ile Gly Thr Trp Thr Ala Val Phe Leu His Ala Ile Phe Gln Ile
65 70 75 80

Arg Leu Pro Thr Ser Met Asp Gln Leu His Trp Leu Pro Val Ser Glu
85 90 95.

Ala Thr Ala Gln Leu Leu Gly Gly Ser Ser Ser Leu Leu His Ile Ala
100 105 110

90

Ala Val Phe Ile Val Leu Glu Phe Leu Tyr Thr Gly Leu Phe Ile Thr
115 120 125

Thr His Asp Ala Met His Gly Thr Ile Ala Leu Arg His Arg Gln Leu
130 135 140

Asn Asp Leu Leu Gly Asn Ile Cys Ile Ser Leu Tyr Ala Trp Phe Asp
145 150 155 160

Tyr Ser Met Leu His Arg Lys His Trp Glu His His Asn His Thr Gly
165 170 175

Glu Val Gly Lys Asp Pro Asp Phe His Lys Gly Asn Pro Gly Leu Val
180 185 190

Pro Trp Phe Ala Ser Phe Met Ser Ser Tyr Met Ser Leu Trp Gln Phe
195 200 205

Ala Arg Leu Ala Trp Trp Ala Val Val Met Gln Met Leu Gly Ala Pro
210 215 220

Met Ala Asn Leu Leu Val Phe Met Ala Ala Ala Pro Ile Leu Ser Ala
225 230 235 240

Phe Arg Leu Phe Tyr Phe Gly Thr Tyr Leu Pro His Lys Pro Glu Pro
245 250 255

Gly Pro Ala Ala Gly Ser Gln Val Met Ala Trp Phe Arg Ala Lys Thr
260 265 270

Ser Glu Ala Ser Asp Val Met Ser Phe Leu Thr Cys Tyr His Phe Asp
275 280 285

Leu His Trp Glu His His Arg Trp Pro Phe Ala Pro Trp Trp Gln Leu
290 295 300

Pro His Cys Arg Arg Leu Ser Gly Arg Gly Leu Val Pro Ala Leu Ala
305 310 315 320

<210> 37

<211> 729

<212> DNA

<213> Agrobacterium aurantiacum

<220>

<221> CDS

<222> (1)...(729)

<223>

<400> 37

atg	agc	gca	cat	gcc	ctg	ccc	aag	gca	gat	ctg	acc	gcc	acc	agc	ctg		48
Met	Ser	Ala	His	Ala	Leu	Pro	Lys	Ala	Asp	Leu	Thr	Ala	Thr	Ser	Leu		
1					5					10					15		

atc	gtc	tcg	ggc	ggc	atc	atc	gcc	gct	tgg	ctg	gcc	ctg	cat	gtg	cat		96
Ile	Val	Ser	Gly	Gly	Ile	Ile	Ala	Ala	Trp	Leu	Ala	Leu	His	Val	His		
20					25					30							

gcg	ctg	tgg	ttt	ctg	gac	gca	gcg	cat	ccc	atc	ctg	gcg	atc	gca		144	
Ala	Leu	Trp	Phe	Leu	Asp	Ala	Ala	His	Pro	Ile	Leu	Ala	Ile	Ala			
35					40					45							

aat	ttc	ctg	ggg	ctg	acc	tgg	ctg	tcg	gtc	gga	ttg	ttc	atc	atc	gcg		192
Asn	Phe	Leu	Gly	Leu	Thr	Trp	Leu	Ser	Val	Gly	Leu	Phe	Ile	Ile	Ala		
50					55					60							

cat	gac	gcg	atg	cac	ggg	tcg	gtg	ccg	ggg	cgt	ccg	cgc	gcc	aat		240	
His	Asp	Ala	Met	His	Gly	Ser	Val	Val	Pro	Gly	Arg	Pro	Arg	Ala	Asn		
65					70					75				80			

gcg	gcg	atg	ggc	cag	ctt	gtc	ctg	tgg	ctg	tat	gcc	gga	ttt	tcg	tgg		288
Ala	Ala	Met	Gly	Gln	Leu	Val	Leu	Trp	Leu	Tyr	Ala	Gly	Phe	Ser	Trp		
85					90					95							

cgc	aag	atg	atc	gtc	aag	cac	atg	gcc	cat	cac	cgc	cat	gcc	gga	acc		336
Arg	Lys	Met	Ile	Val	Lys	His	Met	Ala	His	His	Arg	His	Ala	Gly	Thr		
100					105					110							

gac	gac	gac	ccc	gat	ttc	gac	cat	ggc	ggc	ccg	gtc	cgc	tgg	tac	gcc		384
Asp	Asp	Asp	Pro	Asp	Phe	Asp	His	Gly	Gly	Pro	Val	Arg	Trp	Tyr	Ala		
115					120					125							

<210> 38

<211> 242

<212> PRT

<213> *Agrobacterium aurantiacum*

<400> 38

Met Ser Ala His Ala Leu Pro Lys Ala Asp Leu Thr Ala Thr Ser Leu
1 5 10 15

Ala Leu Trp Phe Leu Asp Ala Ala Ala His Pro Ile Leu Ala Ile Ala
35 40 45

Asn Phe Leu Gly Leu Thr Trp Leu Ser Val Gly Leu Phe Ile Ile Ala
50 55 60

His Asp Ala Met His Gly Ser Val Val Pro Gly Arg Pro Arg Ala Asn
65 70 75 80

Ala Ala Met Gly Gln Leu Val Leu Trp Leu Tyr Ala Gly Phe Ser Trp
85 90 95

Arg Lys Met Ile Val Lys His Met Ala His His Arg His Ala Gly Thr
100 105 110

Asp Asp Asp Pro Asp Phe Asp His Gly Gly Pro Val Arg Trp Tyr Ala
115 120 125

Arg' Phe Ile Gly Thr Tyr Phe Gly Trp Arg Glu Gly Leu Leu Leu Pro
130 135 140

Val Ile Val Thr Val Tyr Ala Leu Ile Leu Gly Asp Arg Trp Met Tyr
145 150 155 160

Val Val Phe Trp Pro Leu Pro Ser Ile Leu Ala Ser Ile Gln Leu Phe
165 170 175

Val Phe Gly Thr Trp Leu Pro His Arg Pro Gly His Asp Ala Phe Pro
180 185 190

Asp Arg His Asn Ala Arg Ser Ser Arg Ile Ser Asp Pro Val Ser Leu
195 200 205

Leu Thr Cys Phe His Phe Gly Gly Tyr His His Glu His His Leu His
210 215 220

Pro Thr Val Pro Trp Trp Arg Leu Pro Ser Thr Arg Thr Lys Gly Asp
225 230 235 240

Thr Ala

<210> 39

<211> 1631

<212> DNA

<213> Alcaligenes sp.

<220>

<221> CDS

<222> (99)..(827)

<223>

<400> 39

ctgcaggccg ggcccggtgg ccaatggtcg caaccggcag gactggaaca ggacggcg 60

ccggcttagg ctgtcgccct acgcagcagg agtttcgg atg tcc gga cg 116
Met Ser Gly Arg Lys Pro
1 5

ggc aca act ggc gac acg atc gtc aat ctc ggt ctg acc gcc g 164
Gly Thr Thr Gly Asp Thr Ile Val Asn Leu Gly Leu Thr Ala Ala Ile
10 15 20

ctg ctg tgc tgg ctg gtc ctg cac gcc ttt acg cta tgg ttg cta g 212
Leu Leu Cys Trp Leu Val Leu His Ala Phe Thr Leu Trp Leu Leu Asp
25 30 35

gcg gcc gcg cat ccg ctg ctt gcc gtg ctg tgc ctg gct ggg ctg acc 260
Ala Ala Ala His Pro Leu Ala Val Leu Cys Leu Ala Gly Leu Thr
40 45 50

tgg ctg tcg gtc ggg ctg ttc atc atc gcg cat gac gca atg cac ggg 308
Trp Leu Ser Val Gly Leu Phe Ile Ile Ala His Asp Ala Met His Gly
55 60 65 70

tcc gtg gtg ccg ggg cgg ccg cgc gcc aat gcg gcg atc ggg caa ctg 356
Ser Val Val Pro Gly Arg Pro Arg Ala Asn Ala Ala Ile Gly Gln Leu
75 80 85

gct ctg tgg ctc tat gct ggg ttc tcg tgg ccc aag ctg atc gcc aag		404	
Ala Leu Trp Leu Tyr Ala Gly Phe Ser Trp Pro Lys Leu Ile Ala Lys			
90	95	100	
 cac atg acg cat cac cgg cac gcc ggc acc gac aac gat ccc gat ttc		452	
His Met Thr His His Arg His Ala Gly Thr Asp Asn Asp Pro Asp Phe			
105	110	115	
 ggc cac gga ggg ccc gtg cgc tgg tac ggc agc ttc gtc tcc acc tat		500	
Gly His Gly Pro Val Arg Trp Tyr Gly Ser Phe Val Ser Thr Tyr			
120	125	130	
 ttc ggc tgg cga gag gga ctg ctg cta ccg gtg atc gtc acc acc tat		548	
Phe Gly Trp Arg Glu Gly Leu Leu Leu Pro Val Ile Val Thr Thr Tyr			
135	140	145	150
 gct ctg atc ctg ggc gat cgc tgg atg tat gtc atc ttc tgg ccg gtc		596	
Ala Leu Ile Leu Gly Asp Arg Trp Met Tyr Val Ile Phe Trp Pro Val			
155	160	165	
 ccg gcc gtt ctg gcg tcg atc cag att ttc gtc ttc gga act tgg ctg		644	
Pro Ala Val Leu Ala Ser Ile Gln Ile Phe Val Phe Gly Thr Trp Leu			
170	175	180	
 ccc cac cgc ccg gga cat gac gat ttt ccc gac cgg cac aac gct agg		692	
Pro His Arg Pro Gly His Asp Asp Phe Pro Asp Arg His Asn Ala Arg			
185	190	195	
 tcg acc ggc atc ggc gac ccg ttg tca cta ctg acc tgc ttc cat ttc		740	
Ser Thr Gly Ile Gly Asp Pro Leu Ser Leu Leu Thr Cys Phe His Phe			
200	205	210	
 ggc ggc tat cac cac gaa cat cac ctg cat ccg cat gtg ccg tgg tgg		788	
Gly Gly Tyr His His Glu His His Leu His Pro His Val Pro Trp Trp			
215	220	225	230
 cgc ctg cct cgt aca cgc aag acc gga ggc cgc gca tga cgcaattcct		837	
Arg Leu Pro Arg Thr Arg Lys Thr Gly Gly Arg Ala			
235	240		
 cattgtcgtg ggcacagtcc tcgtgatggc gctgaccgcc tattccgtcc accgctggat		897	
tatgcacggc cccctaggct ggggctggca caagtcccat cacgaagagc acgaccacgc		957	
gttggagaag aacgacctct acggcgctgt cttcgcggtg ctggcgacga tcctttcac		1017	
cgtggcgcc tattggtggc cggcgctgtg gtggatgcc ctgggcatga cggcttatgg		1077	
gttcatctat ttcatcctgc acgacggct tgcgtatcaa cgctggccgt ttccgtatat		1137	
tccgcggcg ggctatttcc gcaggctcta ccaagctcat cgccgtcacc acgcggctga		1197	

ggggcgggac cactgcgtca gcttcggctt catctatgcc ccacccgtgg acaagctgaa 1257
 gcaggatctg aagcggtcgg gtgtcctgcg cccccaggac gagcgtccgt cgtatctct 1317
 gatcccggcg tggccgcatt aaatccgacg tgctgctggc agggggccggc cttgccaacg 1377
 gactgatcgc gctggcgatc cgcaaggcgc ggcccacct tcgcgtgctg ctgctggacc 1437
 gtgcggcggg cgcctcggac gggcatactt ggtcctgcca cgacaccgat ttggcgccgc 1497
 actggctgga ccgcctgaag ccgatcaggc gtggcgactg gcccgatcag gaggtgcggt 1557
 tcccagacca ttgcgagaagg ctccggccg gatatggctc gatgcacggg cgggggctga 1617
 tgcggt gacc 1631

<210> 40

<211> 242

<212> PRT

<213> Alcaligenes sp.

<400> 40

Met	Ser	Gly	Arg	Lys	Pro	Gly	Thr	Thr	Gly	Asp	Thr	Ile	Val	Asn	Leu
1															
					5							10			15

Gly	Leu	Thr	Ala	Ala	Ile	Leu	Leu	Cys	Trp	Leu	Val	Leu	His	Ala	Phe
					20					25					30

Thr	Leu	Trp	Leu	Leu	Asp	Ala	Ala	Ala	His	Pro	Leu	Leu	Ala	Val	Leu
					35					40					45

Cys	Leu	Ala	Gly	Leu	Thr	Trp	Leu	Ser	Val	Gly	Leu	Phe	Ile	Ile	Ala
					50			55			60				

His	Asp	Ala	Met	His	Gly	Ser	Val	Val	Pro	Gly	Arg	Pro	Arg	Ala	Asn
					65		70		75						80

Ala	Ala	Ile	Gly	Gln	Leu	Ala	Leu	Trp	Leu	Tyr	Ala	Gly	Phe	Ser	Trp
					85				90						95

Pro Lys Leu Ile Ala Lys His Met Thr His His Arg His Ala Gly Thr
100 105 110

Asp Asn Asp Pro Asp Phe Gly His Gly Gly Pro Val Arg Trp Tyr Gly
115 120 125

Ser Phe Val Ser Thr Tyr Phe Gly Trp Arg Glu Gly Leu Leu Leu Pro
130 135 140

Val Ile Val Thr Thr Tyr Ala Leu Ile Leu Gly Asp Arg Trp Met Tyr
145 150 155 160

Val Ile Phe Trp Pro Val Pro Ala Val Leu Ala Ser Ile Gln Ile Phe
165 170 175

Val Phe Gly Thr Trp Leu Pro His Arg Pro Gly His Asp Asp Phe Pro
180 185 190

Asp Arg His Asn Ala Arg Ser Thr Gly Ile Gly Asp Pro Leu Ser Leu
195 200 205

Leu Thr Cys Phe His Phe Gly Gly Tyr His His Glu His His Leu His
210 215 220

Pro His Val Pro Trp Trp Arg Leu Pro Arg Thr Arg Lys Thr Gly Gly
225 230 235 240

Arg Ala

<210> 41

<211> 729

<212> DNA

<213> Paracoccus marcusii

<220>

<221> CDS

<222> (1) . . (729)

<223>

<400> 41

```

atg agc gca cat gcc ctg ccc aag gca gat ctg acc gcc aca agc ctg
Met Ser Ala His Ala Leu Pro Lys Ala Asp Leu Thr Ala Thr Ser Leu
   1           5           10          15

```

48

atc gtc tcg ggc ggc atc atc gcc gca tgg ctg gcc ctg cat gtg cat
 Ile Val Ser Gly Gly Ile Ile Ala Ala Trp Leu Ala Leu His Val His
 20 25 30

96

gcg ctg tgg ttt ctg gac gcg gcg gcc cat ccc atc ctg gcg gtc gcg
Ala Leu Trp Phe Leu Asp Ala Ala Ala His Pro Ile Leu Ala Val Ala
35 40 45

144

```

aat ttc ctg ggg ctg acc tgg ctg tcg gtc gga ttg ttc atc atc gcg
Asn Phe Leu Gly Leu Thr Trp Leu Ser Val Gly Leu Phe Ile Ile Ala
      50           55           60

```

192

cat gac gcg atg cac ggg tcg gtc gtg ccg ggg cgt ccg cgc gcc aat
His Asp Ala Met His Gly Ser Val Val Pro Gly Arg Pro Arg Ala Asn
65 70 75 80

240

288

```

cgc aag atg atc gtc aag cac atg gcc cat cac cgc cat gcc gga acc
Arg Lys Met Ile Val Lys His Met Ala His His Arg His Ala Gly Thr
          100           105           110

```

336

gac gac gac cca gat ttc gac cat ggc ggc ccg gtc cgc tgg tac gcc
 Asp Asp Asp Pro Asp Phe Asp His Gly Gly Pro Val Arg Trp Tyr Ala
 115 120 125

384

```

cgc ttc atc ggc acc tat ttc ggc tgg cgc gag ggg ctg ctg ctg ccc
Arg Phe Ile Gly Thr Tyr Phe Gly Trp Arg Glu Gly Leu Leu Leu Pro
      130           135           140

```

432

gtc att gtg acg gtc tat gcg ctg atc ctg ggg gat cgc tgg atg tac
 Val Ile Val Thr Val Tyr Ala Leu Ile Leu Gly Asp Arg Trp Met Tyr
 145 150 155 160

480

gtg gtc ttc tgg ccg ttg ccg tcg atc ctg gcg tcg atc cag ctg ttc

99

Val Val Phe Trp Pro Leu Pro Ser Ile Leu Ala Ser Ile Gln Leu Phe			
165	170	175	
gtg ttc ggc act tgg ctg ccg cac cgc ccc ggc cac gac gcg ttc ccg			
Val Phe Gly Thr Trp Leu Pro His Arg Pro Gly His Asp Ala Phe Pro			576
180	185	190	
gac cgc cat aat gcg cggtcg ccg atc agc gac cct gtg tcg ctg			
Asp Arg His Asn Ala Arg Ser Ser Arg Ile Ser Asp Pro Val Ser Leu			624
195	200	205	
ctg acc tgc ttt cat ttt ggc ggt tat cat cac gaa cac cac ctg cac			
Leu Thr Cys Phe His Phe Gly Gly Tyr His His Glu His His Leu His			672
210	215	220	
ccg acg gtg ccg tgg tgg cgc ctg ccc agc acc cgc acc aag ggg gac			
Pro Thr Val Pro Trp Trp Arg Leu Pro Ser Thr Arg Thr Lys Gly Asp			720
225	230	235	240
acc gca tga			729
Thr Ala			
<210> 42			
<211> 242			
<212> PRT			
<213> Paracoccus marcusii			
<400> 42			
Met Ser Ala His Ala Leu Pro Lys Ala Asp Leu Thr Ala Thr Ser Leu			
1	5	10	15
Ile Val Ser Gly Gly Ile Ala Ala Trp Leu Ala Leu His Val His			
20	25	30	
Ala Leu Trp Phe Leu Asp Ala Ala Ala His Pro Ile Leu Ala Val Ala			
35	40	45	
Asn Phe Leu Gly Leu Thr Trp Leu Ser Val Gly Leu Phe Ile Ile Ala			
50	55	60	

100

His Asp Ala Met His Gly Ser Val Val Pro Gly Arg Pro Arg Ala Asn
65 70 75 80

Ala Ala Met Gly Gln Leu Val Leu Trp Leu Tyr Ala Gly Phe Ser Trp
85 90 95

Arg Lys Met Ile Val Lys His Met Ala His His Arg His Ala Gly Thr
100 105 110

Asp Asp Asp Pro Asp Phe Asp His Gly Gly Pro Val Arg Trp Tyr Ala
115 120 125

Arg Phe Ile Gly Thr Tyr Phe Gly Trp Arg Glu Gly Leu Leu Leu Pro
130 135 140

Val Ile Val Thr Val Tyr Ala Leu Ile Leu Gly Asp Arg Trp Met Tyr
145 150 155 160

Val Val Phe Trp Pro Leu Pro Ser Ile Leu Ala Ser Ile Gln Leu Phe
165 170 175

Val Phe Gly Thr Trp Leu Pro His Arg Pro Gly His Asp Ala Phe Pro
180 185 190

Asp Arg His Asn Ala Arg Ser Ser Arg Ile Ser Asp Pro Val Ser Leu
195 200 205

Leu Thr Cys Phe His Phe Gly Gly Tyr His His Glu His His Leu His
210 215 220

Pro Thr Val Pro Trp Trp Arg Leu Pro Ser Thr Arg Thr Lys Gly Asp
225 230 235 240

Thr Ala

<210> 43

<211> 1629

<212> DNA

<213> *Synechococystis*

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(1629)

<223>

<400> 43

atg atc acc acc gat gtt gtc att att ggg gcg ggg cac aat ggc tta
Met Ile Thr Thr Asp Val Val Ile Ile Gly Ala Gly His Asn Gly Leu
1 5 10 15

48

gtc tgt gca gcc tat ttg ctc caa cg^g ggc ttg ggg gtg acg tta cta
 Val Cys Ala Ala Tyr Leu Leu Gln Arg Gly Leu Gly Val Thr Leu Leu
 20 25 30

96

gaa aag cgg gaa gta cca ggg ggg gcg gcc acc aca gaa gct ctc atg
 Glu Lys Arg Glu Val Pro Gly Gly Ala Ala Thr Thr Glu Ala Leu Met
 35 40 45

144

ccg gag cta tcc ccc cag ttt cgc ttt aac cgc tgt gcc att gac cac
 Pro Glu Leu Ser Pro Gln Phe Arg Phe Asn Arg Cys Ala Ile Asp His
 50 55 60

192

gaa ttt atc ttt ctg ggg ccg gtg ttg cag gag cta aat tta gcc cag
 Glu Phe Ile Phe Leu Gly Pro Val Leu Gln Glu Leu Asn Leu Ala Gln
 65 70 75 80

240

tat ggt ttg gaa tat tta ttt tgt gac ccc agt gtt ttt tgt ccg ggg
Tyr Gly Leu Glu Tyr Leu Phe Cys Asp Pro Ser Val Phe Cys Pro Gly
85 90 95

288

ctg gat ggc caa gct ttt atg agc tac cgt tcc cta gaa aaa acc tgt
 Leu Asp Gly Gln Ala Phe Met Ser Tyr Arg Ser Leu Glu Lys Thr Cys
 100 105 110

336

gcc cac att gcc acc tat agc ccc cga gat gcg gaa aaa tat cgg caa
Ala His Ile Ala Thr Tyr Ser Pro Arg Asp Ala Glu Lys Tyr Arg Gln
115 120 125

384

ttt gtc aat tat tgg acg gat ttg ctc aac gct gtc cag cct gct ttt
Phe Val Asn Tyr Trp Thr Asp Leu Leu Asn Ala Val Gln Pro Ala Phe
130 135 140

aat gct ccg ccc cag gct tta cta gat tta gcc ctg aac tat ggt tgg Asn Ala Pro Pro Gln Ala Leu Leu Asp Leu Ala Leu Asn Tyr Gly Trp 145	150	155	160	480
gaa aac tta aaa tcc gtg ctg gcg atc gcc ggg tcg aaa acc aag gcg Glu Asn Leu Lys Ser Val Leu Ala Ile Ala Gly Ser Lys Thr Lys Ala 165	170	175		528
ttg gat ttt atc cgc act atg atc ggc tcc ccg gaa gat gtg ctc aat Leu Asp Phe Ile Arg Thr Met Ile Gly Ser Pro Glu Asp Val Leu Asn 180	185	190		576
gaa tgg ttc gac agc gaa cgg gtt aaa gct cct tta gct aga cta tgt Glu Trp Phe Asp Ser Glu Arg Val Lys Ala Pro Leu Ala Arg Leu Cys 195	200	205		624
tcg gaa att ggc gct ccc cca tcc caa aag ggt agt agc tcc ggc atg Ser Glu Ile Gly Ala Pro Pro Ser Gln Lys Gly Ser Ser Ser Gly Met 210	215	220		672
atg atg gtg gcc atg cgg cat ttg gag gga att gcc aga cca aaa gga Met Met Val Ala Met Arg His Leu Glu Gly Ile Ala Arg Pro Lys Gly 225	230	235	240	720
ggc act gga gcc ctc aca gaa gcc ttg gtg aag tta gtg caa gcc caa Gly Thr Gly Ala Leu Thr Glu Ala Leu Val Lys Leu Val Gln Ala Gln 245	250	255		768
ggg gga aaa atc ctc act gac caa acc gtc aaa cgg gta ttg gtg gaa Gly Gly Lys Ile Leu Thr Asp Gln Thr Val Lys Arg Val Leu Val Glu 260	265	270		816
aac aac cag gcg atc ggg gtg gag gta gct aac gga gaa cag tac cgg Asn Asn Gln Ala Ile Gly Val Glu Val Ala Asn Gly Glu Gln Tyr Arg 275	280	285		864
gcc aaa aaa ggc gtg att tct aac atc gat gcc cgc cgt tta ttt ttg Ala Lys Lys Gly Val Ile Ser Asn Ile Asp Ala Arg Arg Leu Phe Leu 290	295	300		912
caa ttg gtg gaa ccg ggg gcc cta gcc aag gtg aat caa aac cta ggg Gln Leu Val Glu Pro Gly Ala Leu Ala Lys Val Asn Gln Asn Leu Gly 305	310	315	320	960
gaa cga ctg gaa cgg cgc act gtg aac aat aac gaa gcc att tta aaa Glu Arg Leu Glu Arg Arg Thr Val Asn Asn Glu Ala Ile Leu Lys 325	330	335		1008
atc gat tgt gcc ctc tcc ggt tta ccc cac ttc act gcc atg gcc ggg Ile Asp Cys Ala Leu Ser Gly Leu Pro His Phe Thr Ala Met Ala Gly 340	345	350		1056

ccg gag gat cta acg gga act att ttg att gcc gac tcg gta cgc cat Pro Glu Asp Leu Thr Gly Thr Ile Leu Ile Ala Asp Ser Val Arg His	355	360	365	1104
gtc gag gaa gcc cac gcc ctc att gcc ttg ggg caa att ccc gat gct Val Glu Glu Ala His Ala Leu Ile Ala Leu Gly Gln Ile Pro Asp Ala	370	375	380	1152
aat ccg tct tta tat ttg gat att ccc act gta ttg gac ccc acc atg Asn Pro Ser Leu Tyr Leu Asp Ile Pro Thr Val Leu Asp Pro Thr Met	385	390	395	400
gcc ccc cct ggg cag cac acc ctc tgg atc gaa ttt ttt gcc ccc tac Ala Pro Pro Gly Gln His Thr Leu Trp Ile Glu Phe Phe Ala Pro Tyr	405	410	415	1248
cgc atc gcc ggg ttg gaa ggg aca ggg tta atg ggc aca ggt tgg acc Arg Ile Ala Gly Leu Glu Gly Thr Gly Leu Met Gly Thr Trp Thr	420	425	430	1296
gat gag tta aag gaa aaa gtg gcg gat cgg gtg att gat aaa tta acg Asp Glu Leu Lys Glu Lys Val Ala Asp Arg Val Ile Asp Lys Leu Thr	435	440	445	1344
gac tat gcc cct aac cta aaa tct ctg atc att ggt cgc cga gtg gaa Asp Tyr Ala Pro Asn Leu Lys Ser Leu Ile Ile Gly Arg Arg Val Glu	450	455	460	1392
agt ccc gcc gaa ctg gcc caa cgg ctg gga agt tac aac ggc aat gtc Ser Pro Ala Glu Leu Ala Gln Arg Leu Gly Ser Tyr Asn Gly Asn Val	465	470	475	480
tat cat ctg gat atg agt ttg gac caa atg atg ttc ctc cgg cct cta Tyr His Leu Asp Met Ser Leu Asp Gln Met Met Phe Leu Arg Pro Leu	485	490	495	1488
ccg gaa att gcc aac tac caa acc ccc atc aaa aat ctt tac tta aca Pro Glu Ile Ala Asn Tyr Gln Thr Pro Ile Lys Asn Leu Tyr Leu Thr	500	505	510	1536
ggg gcg ggt acc cat ccc ggt ggc tcc ata tca ggt atg ccc ggt aga Gly Ala Gly Thr His Pro Gly Gly Ser Ile Ser Gly Met Pro Gly Arg	515	520	525	1584
aat tgc gct cgg gtc ttt tta aaa caa caa cgt cgt ttt tgg taa Asn Cys Ala Arg Val Phe Leu Lys Gln Gln Arg Arg Phe Trp	530	535	540	1629

<211> 542

<212> PRT

<213> Synechocystis

<400> 44

Met Ile Thr Thr Asp Val Val Ile Ile Gly Ala Gly His Asn Gly Leu
1 5 10 15

Val Cys Ala Ala Tyr Leu Leu Gln Arg Gly Leu Gly Val Thr Leu Leu
20 25 30

Glu Lys Arg Glu Val Pro Gly Gly Ala Ala Thr Thr Glu Ala Leu Met
35 40 45

Pro Glu Leu Ser Pro Gln Phe Arg Phe Asn Arg Cys Ala Ile Asp His
50 55 60

Glu Phe Ile Phe Leu Gly Pro Val Leu Gln Glu Leu Asn Leu Ala Gln
65 70 75 80

Tyr Gly Leu Glu Tyr Leu Phe Cys Asp Pro Ser Val Phe Cys Pro Gly
85 90 95

Leu Asp Gly Gln Ala Phe Met Ser Tyr Arg Ser Leu Glu Lys Thr Cys
100 105 110

Ala His Ile Ala Thr Tyr Ser Pro Arg Asp Ala Glu Lys Tyr Arg Gln
115 120 125

Phe Val Asn Tyr Trp Thr Asp Leu Leu Asn Ala Val Gln Pro Ala Phe
130 135 140

Asn Ala Pro Pro Gln Ala Leu Leu Asp Leu Ala Leu Asn Tyr Gly Trp
145 150 155 160

Glu Asn Leu Lys Ser Val Leu Ala Ile Ala Gly Ser Lys Thr Lys Ala
165 170 175

Leu Asp Phe Ile Arg Thr Met Ile Gly Ser Pro Glu Asp Val Leu Asn
180 185 190

Glu Trp Phe Asp Ser Glu Arg Val Lys Ala Pro Leu Ala Arg Leu Cys
195 200 205

Ser Glu Ile Gly Ala Pro Pro Ser Gln Lys Gly Ser Ser Ser Gly Met
210 215 220

Met Met Val Ala Met Arg His Leu Glu Gly Ile Ala Arg Pro Lys Gly
225 230 235 240

Gly Thr Gly Ala Leu Thr Glu Ala Leu Val Lys Leu Val Gln Ala Gln
245 250 255

Gly Gly Lys Ile Leu Thr Asp Gln Thr Val Lys Arg Val Leu Val Glu
260 265 270

Asn Asn Gln Ala Ile Gly Val Glu Val Ala Asn Gly Glu Gln Tyr Arg
275 280 285

Ala Lys Lys Gly Val Ile Ser Asn Ile Asp Ala Arg Arg Leu Phe Leu
290 295 300

Gln Leu Val Glu Pro Gly Ala Leu Ala Lys Val Asn Gln Asn Leu Gly
305 310 315 320

Glu Arg Leu Glu Arg Arg Thr Val Asn Asn Asn Glu Ala Ile Leu Lys
325 330 335

Ile Asp Cys Ala Leu Ser Gly Leu Pro His Phe Thr Ala Met Ala Gly
340 345 350

Pro Glu Asp Leu Thr Gly Thr Ile Leu Ile Ala Asp Ser Val Arg His
355 360 365

Val Glu Glu Ala His Ala Leu Ile Ala Leu Gly Gln Ile Pro Asp Ala
370 375 380

Asn Pro Ser Leu Tyr Leu Asp Ile Pro Thr Val Leu Asp Pro Thr Met
385 390 395 400

Ala Pro Pro Gly Gln His Thr Leu Trp Ile Glu Phe Phe Ala Pro Tyr
405 410 415

Arg Ile Ala Gly Leu Glu Gly Thr Gly Leu Met Gly Thr Gly Trp Thr
420 425 430

Asp Glu Leu Lys Glu Lys Val Ala Asp Arg Val Ile Asp Lys Leu Thr
435 440 445

Asp Tyr Ala Pro Asn Leu Lys Ser Leu Ile Ile Gly Arg Arg Val Glu
450 455 460

Ser Pro Ala Glu Leu Ala Gln Arg Leu Gly Ser Tyr Asn Gly Asn Val
465 470 475 480

Tyr His Leu Asp Met Ser Leu Asp Gln Met Met Phe Leu Arg Pro Leu
485 490 495

Pro Glu Ile Ala Asn Tyr Gln Thr Pro Ile Lys Asn Leu Tyr Leu Thr
500 505 510

Gly Ala Gly Thr His Pro Gly Gly Ser Ile Ser Gly Met Pro Gly Arg
515 520 525.

Asn Cys Ala Arg Val Phe Leu Lys Gln Gln Arg Arg Phe Trp
530 535 540

<210> 45

<211> 776

<212> DNA

<213> *Bradyrhizobium* sp.

<220>

<221> CDS

<222> (1) .. (774)

<223>

<400> 45

```

atg cat gca gca acc gcc aag gct act gag ttc ggg gcc tct cgg cgc 48
Met His Ala Ala Thr Ala Lys Ala Thr Glu Phe Gly Ala Ser Arg Arg
1 5 10 15

```

```

gac gat gcg agg cag cgc cgc gtc ggt ctc acg ctg gcc gcg gtc atc      96
Asp Asp Ala Arg Gln Arg Arg Val Gly Leu Thr Leu Ala Ala Val Ile
          20           25           30

```

atc gcc gcc tgg ctg gtg ctg cat gtc ggt ctg atg ttc ttc tgg ccg
Ile Ala Ala Trp Leu Val Leu His Val Gly Leu Met Phe Phe Trp Pro
 35 40 45

ctg acc ctt cac agc ctg ctg ccg gct ttg cct ctg gtg gtg ctg cag 192
 Leu Thr Leu His Ser Leu Leu Pro Ala Leu Pro Leu Val Val Leu Gln
 50 55 60

acc tgg ctc tat gta ggc ctg ttc atc atc gcg cat gac tgc atg cac 240
 Thr Trp Leu Tyr Val Gly Leu Phe Ile Ile Ala His Asp Cys Met His
 65 70 75 80

ggc tcg ctg gtg ccg ttc aag ccg cag gtc aac cgc cgt atc gga cag 288
 Gly Ser Leu Val Pro Phe Lys Pro Gln Val Asn Arg Arg Ile Gly Gln
 85 90 95

ctc tgc ctg ttc ctc tat gcc ggg ttc tcc ttc .gac gct ctc aat gtc 336
 Leu Cys Leu Phe Leu Tyr Ala Gly Phe Ser Phe Asp Ala Leu Asn Val
100 105 110

gag cac cac aag cat cac cgc cat ccc ggc acg gcc gag gat ccc gat 384
 Glu His His Lys His His Arg His Pro Gly Thr Ala Glu Asp Pro Asp
 115 120 125

ttc gac gag gtg ccg ccg cac ggc ttc tgg cac tgg ttc gcc agc ttt 432
 Phe Asp Glu Val Pro Pro His Gly Phe Trp His Trp Phe Ala Ser Phe
 130 135 140

ttc ctg cac tat ttc ggc tgg aag cag gtc gcg atc atc gca gcc gtc 480
 Phe Leu His Tyr Phe Gly Trp Lys Gln Val Ala Ile Ile Ala Ala Val
 145 150. 155 160

tcg ctg gtt tat cag ctc gtc ttc gcc gtt ccc ttg cag aac atc ctg 528

Ser Leu Val Tyr Gln Leu Val Phe Ala Val Pro Leu Gln Asn Ile Leu		
165	170	175
ctg ttc tgg gcg ctg ccc ggg ctg ctg gcg ctg cag ctg ttc acc		576
Leu Phe Trp Ala Leu Pro Gly Leu Leu Ser Ala Leu Gln Leu Phe Thr		
180	185	190
ttc ggc acc tat ctg ccg cac aag ccg gcc acg cag ccc ttc gcc gat		624
Phe Gly Thr Tyr Leu Pro His Lys Pro Ala Thr Gln Pro Phe Ala Asp		
195	200	205
cgc cac aac gcg cgg acg agc gaa ttt ccc gcg tgg ctg tcg ctg ctg		672
Arg His Asn Ala Arg Thr Ser Glu Phe Pro Ala Trp Leu Ser Leu Leu		
210	215	220
acc tgc ttc cac ttc ggc ttt cat cac gag cat cat ctg cat ccc gat		720
Thr Cys Phe His Phe His His Glu His His Leu His Pro Asp		
225	230	235
gcg ccg tgg tgg cgg ctg ccg gag atc aag ccg ccg gcc ctg gaa agg		768
Ala Pro Trp Trp Arg Leu Pro Glu Ile Lys Arg Arg Ala Leu Glu Arg		
245	250	255
cgt gac ta		776
Arg Asp		

<210> 46

<211> 258

<212> PRT

<213> *Bradyrhizobium* sp.

<400> 46

Met His Ala Ala Thr Ala Lys Ala Thr Glu Phe Gly Ala Ser Arg Arg		
1	5	10
		15

Asp Asp Ala Arg Gln Arg Arg Val Gly Leu Thr Leu Ala Ala Val Ile		
20	25	30

Ile Ala Ala Trp Leu Val Leu His Val Gly Leu Met Phe Phe Trp Pro		
35	40	45

109

Leu Thr Leu His Ser Leu Leu Pro Ala Leu Pro Leu Val Val Leu Gln

50 55

60

Thr Trp Leu Tyr Val Gly Leu Phe Ile Ile Ala His Asp Cys Met His
65 70 75 80Gly Ser Leu Val Pro Phe Lys Pro Gln Val Asn Arg Arg Ile Gly Gln
85 90 95Leu Cys Leu Phe Leu Tyr Ala Gly Phe Ser Phe Asp Ala Leu Asn Val
100 105 110Glu His His Lys His His Arg His Pro Gly Thr Ala Glu Asp Pro Asp
115 120 125Phe Asp Glu Val Pro Pro His Gly Phe Trp His Trp Phe Ala Ser Phe
130 135 140Phe Leu His Tyr Phe Gly Trp Lys Gln Val Ala Ile Ile Ala Ala Val
145 150 155 160Ser Leu Val Tyr Gln Leu Val Phe Ala Val Pro Leu Gln Asn Ile Leu
165 170 175Leu Phe Trp Ala Leu Pro Gly Leu Leu Ser Ala Leu Gln Leu Phe Thr
180 185 190Phe Gly Thr Tyr Leu Pro His Lys Pro Ala Thr Gln Pro Phe Ala Asp
195 200 205Arg His Asn Ala Arg Thr Ser Glu Phe Pro Ala Trp Leu Ser Leu Leu
210 215 220Thr Cys Phe His Phe Gly Phe His His Glu His His Leu His Pro Asp
225 230 235 240Ala Pro Trp Trp Arg Leu Pro Glu Ile Lys Arg Arg Ala Leu Glu Arg
245 250 255

Arg Asp

<210> 47

<211> 777

<212> DNA

<213> Nostoc sp.

<220>

<221> CDS

<222> (1) .. (777)

<223>

<400>	47		
atg gtt cag tgt caa cca tca tct ctg cat tca gaa aaa ctg gtg tta			48
Met Val Gln Cys Gln Pro Ser Ser Leu His Ser Glu Lys Leu Val Leu			
1	5	10	15
ttg tca tcg aca atc aga gat gat aaa aat att aat aag ggt ata ttt			96
Leu Ser Ser Thr Ile Arg Asp Asp Lys Asn Ile Asn Lys Gly Ile Phe			
20	25	30	
att gcc tgc ttt atc tta ttt tta tgg gca att agt tta atc tta tta			144
Ile Ala Cys Phe Ile Leu Phe Leu Trp Ala Ile Ser Leu Ile Leu Leu			
35	40	45	
ctc tca ata gat aca tcc ata att cat aag agc tta tta ggt ata gcc			192
Leu Ser Ile Asp Thr Ser Ile Ile His Lys Ser Leu Leu Gly Ile Ala			
50	55	60	
atg ctt tgg cag acc ttc tta tat aca ggt tta ttt att act gct cat			240
Met Leu Trp Gln Thr Phe Leu Tyr Thr Gly Leu Phe Ile Thr Ala His			
65	70	75	80
gat gcc atg cac ggc gta gtt tat ccc aaa aat ccc aga ata aat aat			288
Asp Ala Met His Gly Val Val Tyr Pro Lys Asn Pro Arg Ile Asn Asn			
85	90	95	
ttt ata ggt aag ctc act cta atc ttg tat gga cta ctc cct tat aaa			336
Phe Ile Gly Lys Leu Thr Leu Ile Leu Tyr Gly Leu Leu Pro Tyr Lys			
100	105	110	

gat tta ttg aaa aaa cat tgg tta cac cac gga cat cct ggt act gat Asp Leu Leu Lys Lys His Trp Leu His His Gly His Pro Gly Thr Asp 115	120	125	384	
tta gac cct gat tat tac aat ggt cat ccc caa aac ttc ttt ctt tgg Leu Asp Pro Asp Tyr Tyr Asn Gly His Pro Gln Asn Phe Phe Leu Trp 130	135	140	432	
tat cta cat ttt atg aag tct tat tgg cga tgg acg caa att ttc gga Tyr Leu His Phe Met Lys Ser Tyr Trp Arg Trp Thr Gln Ile Phe Gly 145	150	155	160	480
tta gtg atg att ttt cat gga ctt aaa aat ctg gtg cat ata cca gaa Leu Val Met Ile Phe His Gly Leu Lys Asn Leu Val His Ile Pro Glu 165	170	175	528	
aat aat tta att ata ttt tgg atg ata cct tct att tta agt tca gta Asn Asn Leu Ile Ile Phe Trp Met Ile Pro Ser Ile Leu Ser Ser Val 180	185	190	576	
caa cta ttt tat ttt ggt aca ttt ttg cct cat aaa aag cta gaa ggt Gln Leu Phe Tyr Phe Gly Thr Phe Leu Pro His Lys Lys Leu Glu Gly 195	200	205	624	
ggt tat act aac ccc cat tgt gcg cgc agt atc cca tta cct ctt ttt Gly Tyr Thr Asn Pro His Cys Ala Arg Ser Ile Pro Leu Pro Leu Phe 210	215	220	672	
tgg tct ttt gtt act tgt tat cac ttc ggc tac cac aag gaa cat cac Trp Ser Phe Val Thr Cys Tyr His Phe Gly Tyr His Lys Glu His His 225	230	235	240	720
gaa tac cct caa ctt cct tgg tgg aaa tta cct gaa gct cac aaa ata Glu Tyr Pro Gln Leu Pro Trp Trp Lys Leu Pro Glu Ala His Lys Ile 245	250	255	768	
tct tta taa Ser Leu			777	

<210> 48

<211> 258

<212> PRT

<213> Nostoc sp.

<400> 48

Met Val Gln Cys Gln Pro Ser Ser Leu His Ser Glu Lys Leu Val Leu
1 5 10 15

Leu Ser Ser Thr Ile Arg Asp Asp Lys Asn Ile Asn Lys Gly Ile Phe
20 25 30

Ile Ala Cys Phe Ile Leu Phe Leu Trp Ala Ile Ser Leu Ile Leu Leu
35 40 45

Leu Ser Ile Asp Thr Ser Ile Ile His Lys Ser Leu Leu Gly Ile Ala
50 55 60

Met Leu Trp Gln Thr Phe Leu Tyr Thr Gly Leu Phe Ile Thr Ala His
65 70 75 80

Asp Ala Met His Gly Val Val Tyr Pro Lys Asn Pro Arg Ile Asn Asn
85 90 95

Phe Ile Gly Lys Leu Thr Leu Ile Leu Tyr Gly Leu Leu Pro Tyr Lys
100 105 110

Asp Leu Leu Lys Lys His Trp Leu His His Gly His Pro Gly Thr Asp
115 120 125

Leu Asp Pro Asp Tyr Tyr Asn Gly His Pro Gln Asn Phe Phe Leu Trp
130 135 140

Tyr Leu His Phe Met Lys Ser Tyr Trp Arg Trp Thr Gln Ile Phe Gly
145 150 155 160

Leu Val Met Ile Phe His Gly Leu Lys Asn Leu Val His Ile Pro Glu
165 170 175

Asn Asn Leu Ile Ile Phe Trp Met Ile Pro Ser Ile Leu Ser Ser Val
180 185 190

Gln Leu Phe Tyr Phe Gly Thr Phe Leu Pro His Lys Lys Leu Glu Gly
195 200 205

Gly Tyr Thr Asn Pro His Cys Ala Arg Ser Ile Pro Leu Pro Leu Phe
 210 215 220

Trp Ser Phe Val Thr Cys Tyr His Phe Gly Tyr His Lys Glu His His
 225 230 235 240

Glu Tyr Pro Gln Leu Pro Trp Trp Lys Leu Pro Glu Ala His Lys Ile
 245 250 255

Ser Leu

<210> 49

<211> 831

<212> DNA

<213> Haematococcus pluvialis

<220>

<221> CDS

<222> (1)...(831)

<223>

<400> 49

atg cca tcc gag tcg tca gac gca gct cgt cct gtg ttg aag cac gcc
 Met Pro Ser Glu Ser Ser Asp Ala Ala Arg Pro Val Leu Lys His Ala
 1 5 10 15

48

tat aaa cct cca gca tct gac gcc aag ggc atc act atg gcg ctg acc
 Tyr Lys Pro Pro Ala Ser Asp Ala Lys Gly Ile Thr Met Ala Leu Thr
 20 25 30

96

atc att ggc acc tgg acc gca gtg ttt tta cac gca ata ttc caa atc
 Ile Ile Gly Thr Trp Thr Ala Val Phe Leu His Ala Ile Phe Gln Ile
 35 40 45

144

agg cta ccg aca tcc atg gac cag ctt cac tgg ttg cct gtg tcc gaa

192

Arg Leu Pro Thr Ser Met Asp Gln Leu His Trp Leu Pro Val Ser Glu			
50	55	60	
gcc aca gcc cag ctg ttg ggc gga agc agc agc cta ttg cac atc gcc			240
Ala Thr Ala Gln Leu Leu Gly Gly Ser Ser Ser Leu Leu His Ile Ala			
65	70	75	80
gca gtc ttc att gta ctt gag ttt ctg tac act ggt cta ttc atc acc			288
Ala Val Phe Ile Val Leu Glu Phe Leu Tyr Thr Gly Leu Phe Ile Thr			
85	90	95	
acg cat gat gca atg cat ggc acc ata gct ttg agg aac agg cag ctc			336
Thr His Asp Ala Met His Gly Thr Ile Ala Leu Arg Asn Arg Gln Leu			
100	105	110	
aat gat ctc ctt ggc aac atc tgc ata tca ctg tac gcc tgg ttt gac			384
Asn Asp Leu Leu Gly Asn Ile Cys Ile Ser Leu Tyr Ala Trp Phe Asp			
115	120	125	
tac agc atg cac tgg gag cac cac aac cat act ggc gaa gtg ggg aaa			432
Tyr Ser Met His Trp Glu His His Asn His Thr Gly Glu Val Gly Lys			
130	135	140	
gac cct gac ttc cac aaa gga aat cct ggc ctt gtc ccc tgg ttc gcc			480
Asp Pro Asp Phe His Lys Gly Asn Pro Gly Leu Val Pro Trp Phe Ala			
145	150	155	160
agc ttc atg tcc agc tac atg tcc ctg tgg cag ttt gcc cgg ctg gca			528
Ser Phe Met Ser Ser Tyr Met Ser Leu Trp Gln Phe Ala Arg Leu Ala			
165	170	175	
tgg tgg gca gtg gtg atg caa acg ttg ggg gcc ccc atg gcg aat ctc			576
Trp Trp Ala Val Val Met Gln Thr Leu Gly Ala Pro Met Ala Asn Leu			
180	185	190	
cta gtc ttc atg gct gca gcc cca atc ttg tca gca ttc cgc ctc ttc			624
Leu Val Phe Met Ala Ala Ala Pro Ile Leu Ser Ala Phe Arg Leu Phe			
195	200	205	
tac ttc ggc act tac ctg cca cac aag cct gag cca ggc cct gca gca			672
Tyr Phe Gly Thr Tyr Leu Pro His Lys Pro Glu Pro Gly Pro Ala Ala			
210	215	220	
ggc tct cag gtc atg tct tgg ttc agg gcc aag aca agt gag gca tct			720
Gly Ser Gln Val Met Ser Trp Phe Arg Ala Lys Thr Ser Glu Ala Ser			
225	230	235	240
gat gtg atg agc ttc ctg aca tgc tac cac ttt gac ctg ttt gcc ccc			768
Asp Val Met Ser Phe Leu Thr Cys Tyr His Phe Asp Leu Phe Ala Pro			
245	250	255	
tgg tgg cag ctg ccc cac tgc cgc cgc ctg tct ggg cgt ggc ctg gtg			816

Trp Trp Gln Leu Pro His Cys Arg Arg Leu Ser Gly Arg Gly Leu Val
260 265 270

cct gcc ttg gca tga 831
Pro Ala Leu Ala
275

<210> 50

<211> 276

<212> PRT

<213> Haematococcus pluvialis

<400> 50

Met Pro Ser Glu Ser Ser Asp Ala Ala Arg Pro Val Leu Lys His Ala
1 5 10 15

Tyr Lys Pro Pro Ala Ser Asp Ala Lys Gly Ile Thr Met Ala Leu Thr
20 25 30

Ile Ile Gly Thr Trp Thr Ala Val Phe Leu His Ala Ile Phe Gln Ile
35 40 45

Arg Leu Pro Thr Ser Met Asp Gln Leu His Trp Leu Pro Val Ser Glu
50 55 60

Ala Thr Ala Gln Leu Leu Gly Gly Ser Ser Ser Leu Leu His Ile Ala
65 70 75 80

Ala Val Phe Ile Val Leu Glu Phe Leu Tyr Thr Gly Leu Phe Ile Thr
85 90 95

Thr His Asp Ala Met His Gly Thr Ile Ala Leu Arg Asn Arg Gln Leu
100 105 110

Asn Asp Leu Leu Gly Asn Ile Cys Ile Ser Leu Tyr Ala Trp Phe Asp
115 120 125

116

Tyr Ser Met His Trp Glu His His Asn His Thr Gly Glu Val Gly Lys

130 135 140

Asp Pro Asp Phe His Lys Gly Asn Pro Gly Leu Val Pro Trp Phe Ala

145 150 155 160

Ser Phe Met Ser Ser Tyr Met Ser Leu Trp Gln Phe Ala Arg Leu Ala

165 170 175

Trp Trp Ala Val Val Met Gln Thr Leu Gly Ala Pro Met Ala Asn Leu

180 185 190

Leu Val Phe Met Ala Ala Ala Pro Ile Leu Ser Ala Phe Arg Leu Phe

195 200 205

Tyr Phe Gly Thr Tyr Leu Pro His Lys Pro Glu Pro Gly Pro Ala Ala

210 215 220

Gly Ser Gln Val Met Ser Trp Phe Arg Ala Lys Thr Ser Glu Ala Ser

225 230 235 240

Asp Val Met Ser Phe Leu Thr Cys Tyr His Phe Asp Leu Phe Ala Pro

245 250 255

Trp Trp Gln Leu Pro His Cys Arg Arg Leu Ser Gly Arg Gly Leu Val

260 265 270

Pro Ala Leu Ala

275

<210> 51

<211> 729

<212> DNA

<213> Paracoccus sp. MBIC1143

<220>

<221> CDS

<222> (1), . (729)

<223>

<400> 51

atg agc gca cat gcc ctg ccc aag gca gat ctg acc gcc acc agc ctg
Met Ser Ala His Ala Leu Pro Lys Ala Asp Leu Thr Ala Thr Ser Leu
1 5 10 15

48

atc gtc tcg ggc ggc atc atc gcc gct tgg ctg gcc ctg cat gtg cat
 Ile Val Ser Gly Gly Ile Ile Ala Ala Trp Leu Ala Leu His Val His
 20 25 30

96

```

gcg ctg tgg ttt ctg gac gca gcg gcg cat ccc atc ctg gcg atc gca
Ala Leu Trp Phe Leu Asp Ala Ala Ala His Pro Ile Leu Ala Ile Ala
          35           40           45

```

144

```

aat ttc ctg ggg ctg acc tgg ctg tcg gtc gga ttg ttc atc atc gcg
Asn Phe Leu Gly Leu Thr Trp Leu Ser Val Gly Leu Phe Ile Ile Ala
      50           55           60

```

192

240

```

gca gca atg ggc cag ctt gtc ctg tgg ctg tat gcc gga ttt tcg tgg
Ala Ala Met Gly Gln Leu Val Leu Trp Leu Tyr Ala Gly Phe Ser Trp
          85           90           95

```

288

cgc aag atg atc gtc aag cac atg gcc cat cac cgc cat gcc gga acc
 Arg Lys Met Ile Val Lys His Met Ala His His Arg His Ala Gly Thr
 100 105 110

336

gac gac gac ccc gat ttc gac cat ggc ggc ccc gtc cgc tgg tac gcc
 Asp Asp Asp Pro Asp Phe Asp His Gly Gly Pro Val Arg Trp Tyr Ala
 115 120 125

384

```

cgc ttc atc ggc acc tat ttc ggc tgg cgc gag ggg ctg ctg ctg ccc
Arg Phe Ile Gly Thr Tyr Phe Gly Trp Arg Glu Gly Leu Leu Leu Pro
      130           135           140

```

432

```

gtc atc gtg acg gtc tat gcg ctg atc ctt ggg gat cgc tgg atg tac
Val Ile Val Thr Val Tyr Ala Leu Ile Leu Gly Asp Arg Trp Met Tyr
145           150           155           160

```

480

gtg gtc ttc tgg ccg ctg ccg tcg atc ctg gcg tcg atc cag ctg ttc
Val Val Phe Trp Pro Leu Pro Ser Ile Leu Ala Ser Ile Gln Leu Phe
165 170 175

gtg ttc ggc acc tgg ctg ccg cac cgc ccc ggc cac gac gcg ttc ccg 576
 Val Phe Gly Thr Trp Leu Pro His Arg Pro Gly His Asp Ala Phe Pro
 180 185 190

gac cgc cac aat gcg cgg tcg tcg cgg atc agc gac ccc gtg tcg ctg 624
 Asp Arg His Asn Ala Arg Ser Ser Arg Ile Ser Asp Pro Val Ser Leu
 195 200 205

ctg acc tgc ttt cac ttt ggc ggt tat cat cac gaa cac cac ctg cac 672
 Leu Thr Cys Phe His Phe Gly Gly Tyr His His Glu His His Leu His
 210 215 220

ccg acg gtg ccg tgg tgg cgc ctg ccc agc acc cgc acc aag ggg gac 720
 Pro Thr Val Pro Trp Trp Arg Leu Pro Ser Thr Arg Thr Lys Gly Asp
 225 230 235 240

acc gca tga 729
 Thr Ala

<210> 52

<211> 242

<212> PRT

<213> Paracoccus sp. MBIC1143

<400> 52

Met Ser Ala His Ala Leu Pro Lys Ala Asp Leu Thr Ala Thr Ser Leu
 1 5 10 15

Ile Val Ser Gly Gly Ile Ala Ala Trp Leu Ala Leu His Val His
 20 25 30

Ala Leu Trp Phe Leu Asp Ala Ala Ala His Pro Ile Leu Ala Ile Ala
 35 40 45

Asn Phe Leu Gly Leu Thr Trp Leu Ser Val Gly Leu Phe Ile Ile Ala
 50 55 60

His Asp Ala Met His Gly Ser Val Val Pro Gly Arg Pro Arg Ala Asn
 65 70 75 80

Ala Ala Met Gly Gln Leu Val Leu Trp Leu Tyr Ala Gly Phe Ser Trp
85 90 95

Arg Lys Met Ile Val Lys His Met Ala His His Arg His Ala Gly Thr
100 105 110

Asp Asp Asp Pro Asp Phe Asp His Gly Gly Pro Val Arg Trp Tyr Ala
115 120 125

Arg Phe Ile Gly Thr Tyr Phe Gly Trp Arg Glu Gly Leu Leu Leu Pro
130 135 140

Val Ile Val Thr Val Tyr Ala Leu Ile Leu Gly Asp Arg Trp Met Tyr
145 150 155 160

Val Val Phe Trp Pro Leu Pro Ser Ile Leu Ala Ser Ile Gln Leu Phe
165 170 175

Val Phe Gly Thr Trp Leu Pro His Arg Pro Gly His Asp Ala Phe Pro
180 185 190

Asp Arg His Asn Ala Arg Ser Ser Arg Ile Ser Asp Pro Val Ser Leu
195 200 205

Leu Thr Cys Phe His Phe Gly Gly Tyr His His Glu His His Leu His
210 215 220

Pro Thr Val Pro Trp Trp Arg Leu Pro Ser Thr Arg Thr Lys Gly Asp
225 230 235 240

Thr Ala

<210> 53

<211> 735

<212> DNA

<213> Brevundimonas aurantiaca

<220>

<221> CDS

<222> (1) .. (735)

<223>

<400>	53			
atg acc gcc gcc gtc gcc gag cca cgc acc gtc ccg cgc cag acc tgg				48
Met Thr Ala Ala Val Ala Glu Pro Arg Thr Val Pro Arg Gln Thr Trp				
1	5	10	15	
atc ggt ctg acc ctg gcg gga atg atc gtg gcg gga tgg gcg gtt ctg				96
Ile Gly Leu Thr Leu Ala Gly Met Ile Val Ala Gly Trp Ala Val Leu				
20	25	30		
cat gtc tac ggc gtc tat ttt cac cga tgg ggg ccg ttg acc ctg gtg				144
His Val Tyr Gly Val Tyr Phe His Arg Trp Gly Pro Leu Thr Leu Val				
35	40	45		
atc gcc ccg gcg atc gtc gcg gtc cag acc tgg ttg tcg gtc ggc ctt				192
Ile Ala Pro Ala Ile Val Ala Val Gln Thr Trp Leu Ser Val Gly Leu				
50	55	60		
ttc atc gtc gcc cat gac gcc atg tac ggc tcc ctg gcg ccg gga cgg				240
Phe Ile Val Ala His Asp Ala Met Tyr Gly Ser Leu Ala Pro Gly Arg				
65	70	75	80	
ccg cgg ctg aac gcc gca gtc ggc cgg ctg acc ctg ggg ctc tat gcg				288
Pro Arg Leu Asn Ala Ala Val Gly Arg Leu Thr Leu Gly Leu Tyr Ala				
85	90	95		
ggc ttc cgc ttc gat cgg ctg aag acg gcg cac cac gcc cac cac gcc				336
Gly Phe Arg Phe Asp Arg Leu Lys Thr Ala His His Ala His His Ala				
100	105	110		
gcg ccc ggc acg gcc gac gac cgg gat ttt cac gcc ccg gcg ccc cgc				384
Ala Pro Gly Thr Ala Asp Asp Pro Asp Phe His Ala Pro Ala Pro Arg				
115	120	125		
gcc ttc ctt ccc tgg ttc ctg aac ttc ttt cgc acc tat ttc ggc tgg				432
Ala Phe Leu Pro Trp Phe Leu Asn Phe Phe Arg Thr Tyr Phe Gly Trp				
130	135	140		
gcg gag atg gcg gtc ctg acc gcc ctg gtc ctg atc gcc ctc ttc ggc				480

Arg Glu Met Ala Val Leu Thr Ala Leu Val Leu Ile Ala Leu Phe Gly			
145	150	155	160
ctg ggg gcg ccg gcc aat ctc ctg acc ttc tgg gcc gcg ccg gcc			528
Leu Gly Ala Arg Pro Ala Asn Leu Leu Thr Phe Trp Ala Ala Pro Ala			
165	170	175	
ctg ctt tca gcg ctt cag ctc ttc acc ttc ggc acc tgg ctg ccg cac			576
Leu Leu Ser Ala Leu Gln Leu Phe Thr Phe Gly Thr Trp Leu Pro His			
180	185	190	
cgc cac acc gac cag ccg ttc gcc gac gcg cac cac gcc cgc agc agc			624
Arg His Thr Asp Gln Pro Phe Ala Asp Ala His His Ala Arg Ser Ser			
195	200	205	
ggc tac ggc ccc gtg ctt tcc ctg ctc acc tgt ttc cac ttc ggc cgc			672
Gly Tyr Gly Pro Val Leu Ser Leu Leu Thr Cys Phe His Phe Gly Arg			
210	215	220	
cac cac gaa cac cat ctg agc ccc tgg cgg ccc tgg tgg cgt ctg tgg			720
His His Glu His His Leu Ser Pro Trp Arg Pro Trp Trp Arg Leu Trp			
225	230	235	240
cgc ggc gag tct tga			735
Arg Gly Glu Ser			

<210> 54

<211> 244

<212> PRT

<213> Brevundimonas aurantiaca

<400> 54

Met Thr Ala Ala Val Ala Glu Pro Arg Thr Val Pro Arg Gln Thr Trp			
1	5	10	15

Ile Gly Leu Thr Leu Ala Gly Met Ile Val Ala Gly Trp Ala Val Leu			
20	25	30	

His Val Tyr Gly Val Tyr Phe His Arg Trp Gly Pro Leu Thr Leu Val			
35	40	45	

Ile Ala Pro Ala Ile Val Ala Val Gln Thr Trp Leu Ser Val Gly Leu
50 55 60

Phe Ile Val Ala His Asp Ala Met Tyr Gly Ser Leu Ala Pro Gly Arg
65 70 75 80

Pro Arg Leu Asn Ala Ala Val Gly Arg Leu Thr Leu Gly Leu Tyr Ala
85 90 95

Gly Phe Arg Phe Asp Arg Leu Lys Thr Ala His His Ala His His Ala
100 105 110

Ala Pro Gly Thr Ala Asp Asp Pro Asp Phe His Ala Pro Ala Pro Arg
115 120 125

Ala Phe Leu Pro Trp Phe Leu Asn Phe Phe Arg Thr Tyr Phe Gly Trp
130 135 140

Arg Glu Met Ala Val Leu Thr Ala Leu Val Leu Ile Ala Leu Phe Gly
145 150 155 160

Leu Gly Ala Arg Pro Ala Asn Leu Leu Thr Phe Trp Ala Ala Pro Ala
165 170 175

Leu Leu Ser Ala Leu Gln Leu Phe Thr Phe Gly Thr Trp Leu Pro His
180 185 190

Arg His Thr Asp Gln Pro Phe Ala Asp Ala His His Ala Arg Ser Ser
195 200 205

Gly Tyr Gly Pro Val Leu Ser Leu Leu Thr Cys Phe His Phe Gly Arg
210 215 220

His His Glu His His Leu Ser Pro Trp Arg Pro Trp Trp Arg Leu Trp
225 230 235 240

Arg Gly Glu Ser

<210> 55

<211> 690

<212> DNA

<213> Nodularia spumigena NSOR10

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(690)

<223>

<400> 55

atg gcg atc gcc att att agt ata tgg gct atc agc cta ggt ttg tta
 Met Ala Ile Ala Ile Ile Ser Ile Trp Ala Ile Ser Leu Gly Leu Leu
 1 . . . 5 10 15

48

ctt tat att gat ata tcc caa ttc aag ttt tgg atg ttg tta ccg ctc
 Leu Tyr Ile Asp Ile Ser Gln Phe Lys Phe Trp Met Leu Leu Pro Leu
 20 25 30

96

ata ttt tgg caa aca ttt tta tat acg gga tta ttt att aca gct cat
 Ile Phe Trp Gln Thr Phe Leu Tyr Thr Gly Leu Phe Ile Thr Ala His
 35 40 45

144

gat gcc atg cat ggg gta gtt ttt ccc aaa aat ccc aaa atc aac cat
 Asp Ala Met His Gly Val Val Phe Pro Lys Asn Pro Lys Ile Asn His
 50 55 60

192

tgc att ggc tca ttg tgc ctg ttt ctt tat ggt ctt tta cct tat caa
 Phe Ile Gly Ser Leu Cys Leu Phe Leu Tyr Gly Leu Leu Pro Tyr Gln
 65 70 75 80

240

aaa ctt tta aaa aag cat tgg cta cat cac cat aat cca gcc agt gaa
 Lys Leu Leu Lys Lys His Trp Leu His His His Asn Pro Ala Ser Glu
 85 90 95

288

aca gat cca gat ttt cac aac ggg aag cag aaa aac ttt ttt gct tgg
 Thr Asp Pro Asp Phe His Asn Gly Lys Gln Lys Asn Phe Phe Ala Trp
 100 105 110

336

tat tta tat ttt atg aag cgt tac tgg agt tgg tta caa att atc aca
 Tyr Leu Tyr Phe Met Lys Arg Tyr Trp Ser Trp Leu Gln Ile Ile Thr
 115 120 125

384

tta atg att att tat aac tta cta aaa tat ata tgg cat ttt cca gag	432
Leu Met Ile Ile Tyr Asn Leu Leu Lys Tyr Ile Trp His Phe Pro Glu	
130	135
	140
gat aat atg act tat ttt tgg gta gtt ccc tca att tta agt tct tta	480
Asp Asn Met Thr Tyr Phe Trp Val Val Pro Ser Ile Leu Ser Ser Leu	
145	150
	155
	160
caa tta ttt tat ttt gga act ttt cta ccc cac agt gag cct gta gaa	528
Gln Leu Phe Tyr Phe Gly Thr Phe Leu Pro His Ser Glu Pro Val Glu	
165	170
	175
ggt tat aaa gag cct cat cgt tcc caa act att agc cgt ccc att tgg	576
Gly Tyr Lys Glu Pro His Arg Ser Gln Thr Ile Ser Arg Pro Ile Trp	
180	185
	190
tgg tca ttt ata act tgt tac cat ttt ggt tat cat tac gaa cat cat	624
Trp Ser Phe Ile Thr Cys Tyr His Phe Gly Tyr His Tyr Glu His His	
195	200
	205
gaa tac ccc cat gtt cct tgg tgg caa tta cca gaa att tat aaa atg	672
Glu Tyr Pro His Val Pro Trp Trp Gln Leu Pro Glu Ile Tyr Lys Met	
210	215
	220
tct aaa tca aat ttg tga	690
Ser Lys Ser Asn Leu	
225	

<210> 56

<211> 229

<212> PRT

<213> Nodularia spumigena NSOR10

<400> 56

Met Ala Ile Ala Ile Ile Ser Ile Trp Ala Ile Ser Leu Gly Leu Leu	
1	5
	10
	15

Leu Tyr Ile Asp Ile Ser Gln Phe Lys Phe Trp Met Leu Leu Pro Leu	
20	25
	30

Ile Phe Trp Gln Thr Phe Leu Tyr Thr Gly Leu Phe Ile Thr Ala His	
35	40
	45

Asp Ala Met His Gly Val Val Phe Pro Lys Asn Pro Lys Ile Asn His
50 55 60

Phe Ile Gly Ser Leu Cys Leu Phe Leu Tyr Gly Leu Leu Pro Tyr Gln
65 70 75 80

Lys Leu Leu Lys Lys His Trp Leu His His Asn Pro Ala Ser Glu
85 90 95

Thr Asp Pro Asp Phe His Asn Gly Lys Gln Lys Asn Phe Phe Ala Trp
100 105 110

Tyr Leu Tyr Phe Met Lys Arg Tyr Trp Ser Trp Leu Gln Ile Ile Thr
115 120 125

Leu Met Ile Ile Tyr Asn Leu Leu Lys Tyr Ile Trp His Phe Pro Glu
130 135 140

Asp Asn Met Thr Tyr Phe Trp Val Val Pro Ser Ile Leu Ser Ser Leu
145 150 155 160

Gln Leu Phe Tyr Phe Gly Thr Phe Leu Pro His Ser Glu Pro Val Glu
165 170 175

Gly Tyr Lys Glu Pro His Arg Ser Gln Thr Ile Ser Arg Pro Ile Trp
180 185 190

Trp Ser Phe Ile Thr Cys Tyr His Phe Gly Tyr His Tyr Glu His His
195 200 205

Glu Tyr Pro His Val Pro Trp Trp Gln Leu Pro Glu Ile Tyr Lys Met
210 215 220

Ser Lys Ser Asn Leu
225

<211> 789

<212> DNA

<213> Nostoc punctiforme ATCC 29133

<220>

<221> CDS

. <222> (1) .. (789)

<223>

<400> 57

ttg aat ttt tgt gat aaa cca gtt agc tat tat gtt gca ata gag caa
Leu Asn Phe Cys Asp Lys Pro Val Ser Tyr Tyr Val Ala Ile Glu Gln
1 5 10 15

48

```

tta agt gct aaa gaa gat act gtt tgg ggg ctg gtg att gtc ata gta
Leu Ser Ala Lys Glu Asp Thr Val Trp Gly Leu Val Ile Val Ile Val
.          20           25           30

```

96

144

```

tat gcc aaa gtc cca att tgg ttg ata cct att gca ata gtt tgg caa
Tyr Ala Lys Val Pro Ile Trp Leu Ile Pro Ile Ala Ile Val Trp Gln
      50           55           60

```

192

```

atg ttc ctt tat aca ggg cta ttt att act gca cat gat gct atg cat
Met Phe Leu Tyr Thr Gly Leu Phe Ile Thr Ala His Asp Ala Met His
65          70          75          80

```

240

ggg tca gtt tat cgt aaa aat ccc aâa att aat aat ttt atc ggt tca
 Gly Ser Val Tyr Arg Lys Asn Pro Lys Ile Asn Asn Phe Ile Gly Ser
 85 90 95

288

336

aat cat tgc tta cat cat cgt cat cct gct agc gaa gtt gac cca gat
 Asn His Cys Leu His His Arg His Pro Ala Ser Glu Val Asp Pro Asp
 115 120 125

384

ttt cat gat ggt aag aga aca aac gct att ttc tgg tat ctc cat ttc

Phe His Asp Gly Lys Arg Thr Asn Ala Ile Phe Trp Tyr Leu His Phe			
130	135	140	
atg ata gaa tac tcc agt tgg caa cag tta ata gta cta act atc cta			480
Met Ile Glu Tyr Ser Ser Trp Gln Gln Leu Ile Val Leu Thr Ile Leu			
145	150	155	160
ttt aat tta gct aaa tac gtt ttg cac atc cat caa ata aat ctc atc			528
Phe Asn Leu Ala Lys Tyr Val Leu His Ile His Gln Ile Asn Leu Ile			
165	170	175	
tta ttt tgg agt att cct cca att tta agt tcc att caa ctg ttt tat			576
Leu Phe Trp Ser Ile Pro Pro Ile Leu Ser Ser Ile Gln Leu Phe Tyr			
180	185	190	
ttc gga aca ttt ttg cct cat cga gaa ccc aag aaa gga tat gtt tat			624
Phe Gly Thr Phe Leu Pro His Arg Glu Pro Lys Lys Gly Tyr Val Tyr			
195	200	205	
ccc cat tgc agc caa aca ata aaa ttg cca act ttt ttg tca ttt atc			672
Pro His Cys Ser Gln Thr Ile Lys Leu Pro Thr Phe Leu Ser Phe Ile			
210	215	220	
gct tgc tac cac ttt ggt tat cat gaa gaa cat cat gag tat ccc cat			720
Ala Cys Tyr His Phe Gly Tyr His Glu Glu His His Glu Tyr Pro His			
225	230	235	240
gta cct tgg tgg caa ctt cca tct gta tat aag cag aga gta ttc aac			768
Val Pro Trp Trp Gln Leu Pro Ser Val Tyr Lys Gln Arg Val Phe Asn			
245	250	255	
aat tca gta acc aat tcg taa			789
Asn Ser Val Thr Asn Ser			
260			
<210> 58			
<211> 262			
<212> PRT			
<213> Nostoc punctiforme ATCC 29133			

<400> 58

Leu Asn Phe Cys Asp Lys Pro Val Ser Tyr Tyr Val Ala Ile Glu Gln
 1 5 10 15

Leu Ser Ala Lys Glu Asp Thr Val Trp Gly Leu Val Ile Val Ile Val
20 25 30

Ile Ile Ser Leu Trp Val Ala Ser Leu Ala Phe Leu Leu Ala Ile Asn
35 40 45

Tyr Ala Lys Val Pro Ile Trp Leu Ile Pro Ile Ala Ile Val Trp Gln
50 55 60

Met Phe Leu Tyr Thr Gly Leu Phe Ile Thr Ala His Asp Ala Met His
65 70 75 80

Gly Ser Val Tyr Arg Lys Asn Pro Lys Ile Asn Asn Phe Ile Gly Ser
85 90 95

Leu Ala Val Ala Leu Tyr Ala Val Phe Pro Tyr Gln Gln Met Leu Lys
100 105 110

Asn His Cys Leu His His Arg His Pro Ala Ser Glu Val Asp Pro Asp
115 120 125

Phe His Asp Gly Lys Arg Thr Asn Ala Ile Phe Trp Tyr Leu His Phe
130 135 140

Met Ile Glu Tyr Ser Ser Trp Gln Gln Leu Ile Val Leu Thr Ile Leu
145 150 155 160

Phe Asn Leu Ala Lys Tyr Val Leu His Ile His Gln Ile Asn Leu Ile
165 170 175

Leu Phe Trp Ser Ile Pro Pro Ile Leu Ser Ser Ile Gln Leu Phe Tyr
180 185 190

Phe Gly Thr Phe Leu Pro His Arg Glu Pro Lys Lys Gly Tyr Val Tyr
195 200 205

Pro His Cys Ser Gln Thr Ile Lys Leu Pro Thr Phe Leu Ser Phe Ile
210 215 220

129

Ala Cys Tyr His Phe Gly Tyr His Glu Glu His His Glu Tyr Pro His
225 230 235 240

Val Pro Trp Trp Gln Leu Pro Ser Val Tyr Lys Gln Arg Val Phe Asn
245 250 255

Asn Ser Val Thr Asn Ser
260

<210> 59

<211> 762

<212> DNA

<213> Nostoc punctiforme ATCC 29133

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(762)

<223>

<400> 59

gtg atc cag tta gaa caa cca ctc agt cat caa gca aaa ctg act cca 48
Val Ile Gln Leu Glu Gln Pro Leu Ser His Gln Ala Lys Leu Thr Pro
1 5 10 15

gta ctg aga agt aaa tct cag ttt aag ggg ctt ttc att gct att gtc 96
Val Leu Arg Ser Lys Ser Gln Phe Lys Gly Leu Phe Ile Ala Ile Val
20 25 30

att gtt agc gca tgg gtc att agc ctg agt tta tta ctt tcc ctt gac 144
Ile Val Ser Ala Trp Val Ile Ser Leu Ser Leu Leu Ser Leu Asp
35 40 45

atc tca aag cta aaa ttt tgg atg tta ttg cct gtt ata cta tgg caa 192
Ile Ser Lys Leu Lys Phe Trp Met Leu Leu Pro Val Ile Leu Trp Gln
50 55 60

aca ttt tta tat acg gga tta ttt att aca tct cat gat gcc atg cat 240
Thr Phe Leu Tyr Thr Gly Leu Phe Ile Thr Ser His Asp Ala Met His
65 70 75 80

ggc gta gta ttt ccc caa aac acc aag att aat cat ttg att gga aca	288
Gly Val Val Phe Pro Gln Asn Thr Lys Ile Asn His Leu Ile Gly Thr	
85	90
95	
ttg acc cta tcc ctt tat ggt ctt tta cca tat caa aaa cta ttg aaa	336
Leu Thr Leu Ser Leu Tyr Gly Leu Leu Pro Tyr Gln Lys Leu Leu Lys	
100	105
110	
aaa cat tgg tta cac cac cac aat cca gca agc tca ata gac ccg gat	384
Lys His Trp Leu His His Asn Pro Ala Ser Ser Ile Asp Pro Asp	
115	120
125	
ttt cac aat ggt aaa cac caa agt ttc ttt gct tgg tat ttt cat ttt	432
Phe His Asn Gly Lys His Gln Ser Phe Phe Ala Trp Tyr Phe His Phe	
130	135
140	
atg aaa ggt tac tgg agt tgg ggg caa ata att gcg ttg act att att	480
Met Lys Gly Tyr Trp Ser Trp Gly Gln Ile Ile Ala Leu Thr Ile Ile	
145	150
155	160
tat aac ttt gct aaa tac ata ctc cat atc cca agt gat aat cta act	528
Tyr Asn Phe Ala Lys Tyr Ile Leu His Ile Pro Ser Asp Asn Leu Thr	
165	170
175	
tac ttt tgg gtg cta ccc tcg ctt tta agt tca tta caa tta ttc tat	576
Tyr Phe Trp Val Leu Pro Ser Leu Leu Ser Ser Leu Gln Leu Phe Tyr	
180	185
190	
ttt ggt act ttt tta ccc cat agt gaa cca ata ggg ggt tat gtt cag	624
Phe Gly Thr Phe Leu Pro His Ser Glu Pro Ile Gly Gly Tyr Val Gln	
195	200
205	
cct cat tgt gcc caa aca att agc cgt cct att tgg tgg tca ttt atc	672
Pro His Cys Ala Gln Thr Ile Ser Arg Pro Ile Trp Trp Ser Phe Ile	
210	215
220	
acg tgc tat cat ttt ggc tac cac gag gaa cat cac gaa tat cct cat	720
Thr Cys Tyr His Phe Gly Tyr His Glu Glu His His Glu Tyr Pro His	
225	230
235	240
att tct tgg tgg cag tta cca gaa att tac aaa gca aaa tag	762
Ile Ser Trp Trp Gln Leu Pro Glu Ile Tyr Lys Ala Lys	
245	250

<210> 60

<211> 253

<212> PRT

<213> Nostoc punctiforme ATCC 29133

<400> 60

Val Ile Gln Leu Glu Gln Pro Leu Ser His Gln Ala Lys Leu Thr Pro
1 5 10 15

Val Leu Arg Ser Lys Ser Gln Phe Lys Gly Leu Phe Ile Ala Ile Val
20 25 30

Ile Val Ser Ala Trp Val Ile Ser Leu Ser Leu Leu Ser Leu Asp
35 40 45

Ile Ser Lys Leu Lys Phe Trp Met Leu Leu Pro Val Ile Leu Trp Gln
50 55 60

Thr Phe Leu Tyr Thr Gly Leu Phe Ile Thr Ser His Asp Ala Met His
65 70 75 80

Gly Val Val Phe Pro Gln Asn Thr Lys Ile Asn His Leu Ile Gly Thr
85 90 95

Leu Thr Leu Ser Leu Tyr Gly Leu Leu Pro Tyr Gln Lys Leu Leu Lys
100 105 110

Lys His Trp Leu His His Asn Pro Ala Ser Ser Ile Asp Pro Asp
115 120 125

Phe His Asn Gly Lys His Gln Ser Phe Phe Ala Trp Tyr Phe His Phe
130 135 140

Met Lys Gly Tyr Trp Ser Trp Gly Gln Ile Ile Ala Leu Thr Ile Ile
145 150 155 160

Tyr Asn Phe Ala Lys Tyr Ile Leu His Ile Pro Ser Asp Asn Leu Thr
165 170 175

Tyr Phe Trp Val Leu Pro Ser Leu Leu Ser Ser Leu Gln Leu Phe Tyr
180 185 190

Phe Gly Thr Phe Leu Pro His Ser Glu Pro Ile Gly Gly Tyr Val Gln
 195 200 205

Pro His Cys Ala Gln Thr Ile Ser Arg Pro Ile Trp Trp Ser Phe Ile
 210 215 220

Thr Cys Tyr His Phe Gly Tyr His Glu Glu His His Glu Tyr Pro His
 225 230 235 240

Ile Ser Trp Trp Gln Leu Pro Glu Ile Tyr Lys Ala Lys
 245 250

<210> 61

<211> 1536

<212> DNA

<213> Deinococcus radiodurans R1

<220>

<221> CDS

<222> (1) .. (1536)

<223>

<400> 61
 atg ccg gat tac gac ctg atc gtc atg ggc gcg ggc cac aac gcg ctg 48
 Met Pro Asp Tyr Asp Leu Ile Val Met Gly Ala Gly His Asn Ala Leu
 1 5 10 15

gtg act gct gcc tac gcc gcc cggt ggc ggc ctg aaa gtc ggc gtg ttc 96
 Val Thr Ala Ala Tyr Ala Ala Arg Ala Gly Leu Lys Val Gly Val Phe
 20 25 30

gag cgg cgg cac ctc gtc ggc ggg gcg gtc agc acc gag gag gtc gtg 144
 Glu Arg Arg His Leu Val Gly Gly Ala Val Ser Thr Glu Glu Val Val
 35 40 45

ccc ggt tac cgc ttc gac tac ggc ggc agc gac cac atc ctg att cgg 192

Pro Gly Tyr Arg Phe Asp Tyr Gly Gly Ser Ala His Ile Leu Ile Arg				
50	55	60		
atg acg ccc atc gtg cgc gaa ctc gaa ctc acg cg ^g cac ggg ctg cat				240
Met Thr Pro Ile Val Arg Glu Leu Glu Leu Thr Arg His Gly Leu His				
65	70	75	80	
tac ctc gaa gtg gac cct atg ttt cac gct tcc gac ggt gaa acg ccc				288
Tyr Leu Glu Val Asp Pro Met Phe His Ala Ser Asp Gly Glu Thr Pro				
85	90	95		
tgg ttc att cac cgc gac gcc ggg cg ^g acc atc cgc gaa ctg gac gaa				336
Trp Phe Ile His Arg Asp Ala Gly Arg Thr Ile Arg Glu Leu Asp Glu				
100	105	110		
aag ttt ccc ggg cag ggc gac gcc tac ggg cgc ttt ctc gac gat tgg				384
Lys Phe Pro Gly Gln Gly Asp Ala Tyr Gly Arg Phe Leu Asp Asp Trp				
115	120	125		
aca ccc ttc qcg cgc gcc gtg gcc gac ctg ttc aac tcg gcg ccg ggg				432
Thr Pro Phe Ala Arg Ala Val Ala Asp Leu Phe Asn Ser Ala Pro Gly				
130	135	140		
ccg ctc gac ctg ggc aaa atg gtg atg cgc agc ggc cag ggc aag gac				480
Pro Leu Asp Leu Gly Lys Met Val Met Arg Ser Gly Gln Gly Lys Asp				
145	150	155	160	
tgg aac gag cag ctc ccg cgc atc ctg cg ^g ccc tac ggc gac gtg gcg				528
Trp Asn Glu Gln Leu Pro Arg Ile Leu Arg Pro Tyr Gly Asp Val Ala				
165	170	175		
cgc gag tac ttc agc gag gag cgc gtg cg ^g gct ccc ctg acc tgg atg				576
Arg Glu Tyr Phe Ser Glu Glu Arg Val Arg Ala Pro Leu Thr Trp Met				
180	185	190		
gcg gcc cag agc ggc ccc cca ccc tcg gac ccg ctg agc gcg ccc ttt				624
Ala Ala Gln Ser Gly Pro Pro Ser Asp Pro Leu Ser Ala Pro Phe				
195	200	205		
ttg ctg tgg cac ccg ctc tac cac gaa ggc ggc gtg gcg ccg ccc aaa				672
Leu Leu Trp His Pro Leu Tyr His Glu Gly Gly Val Ala Arg Pro Lys				
210	215	220		
ggc ggc agc ggc ggc ctg acc aaa gcc ctg cgc cg ^g gcc acc gag gcc				720
Gly Gly Ser Gly Gly Leu Thr Lys Ala Leu Arg Arg Ala Thr Glu Ala				
225	230	235	240	
gaa ggc ggc gag gtc ttc acc gac gcg ccg gtc aag gaa att ctg gtc				768
Glu Gly Gly Glu Val Phe Thr Asp Ala Pro Val Lys Glu Ile Leu Val				
245	250	255		
aag gac ggc aag gcg cag ggc atc ccg ctg gaa agc ggc gag acg tac				816

Lys Asp Gly Lys Ala Gln Gly Ile Arg Leu Glu Ser Gly Glu Thr Tyr			
260	265	270	
acc gcc cgc gcc gtc gtg tcg ggc gtc cac atc ctg acc act gcg aat			864
Thr Ala Arg Ala Val Val Ser Gly Val His Ile Leu Thr Thr Ala Asn			
275	280	285	
gcc ctg ccc gcc gaa tat gtc cct agc gcc gcc agg aat gtg cgc gtg			912
Ala Leu Pro Ala Glu Tyr Val Pro Ser Ala Ala Arg Asn Val Arg Val			
290	295	300	
ggc aac ggc ttc ggc atg att ttg cgc ctc gcc ctc agt gaa aaa gtc			960
Gly Asn Gly Phe Gly Met Ile Leu Arg Leu Ala Leu Ser Glu Lys Val			
305	310	315	320
aaa tac cgt cac cac acc gag ccc gac tca cgc atc ggc ctg gga ttg			1008
Lys Tyr Arg His His Thr Glu Pro Asp Ser Arg Ile Gly Leu Gly Leu			
325	330	335	
ctg atc aaa aac gag cgg caa atc atg cag ggc tac ggc gaa tac ctc			1056
Leu Ile Lys Asn Glu Arg Gln Ile Met Gln Gly Tyr Gly Glu Tyr Leu			
340	345	350	
gcc ggg cag ccc acc acc gac ccg ccc ctc gtc gcc atg agc ttc agc			1104
Ala Gly Gln Pro Thr Thr Asp Pro Pro Leu Val Ala Met Ser Phe Ser			
355	360	365	
gcf gtg gac gac tcg ctc gcc cca ccg aac ggc gac gtg ttg tgg ctg			1152
Ala Val Asp Asp Ser Leu Ala Pro Pro Asn Gly Asp Val Leu Trp Leu			
370	375	380	
tgg gcg cag tac tac ccc ttc gag ctc gcc acc ggg agc tgg gaa acg			1200
Trp Ala Gln Tyr Tyr Pro Phe Glu Leu Ala Thr Gly Ser Trp Glu Thr			
385	390	395	400
cgc acc gcc gaa gcg cgg gag aac atc ctg cgg gcc ttt gag cac tac			1248
Arg Thr Ala Glu Ala Arg Glu Asn Ile Leu Arg Ala Phe Glu His Tyr			
405	410	415	
gcf ccg ggc acc cgc gac acg att gtg ggc gaa ctc gtg cag acg ccg			1296
Ala Pro Gly Thr Arg Asp Thr Ile Val Gly Glu Leu Val Gln Thr Pro			
420	425	430	
cag tgg ctg gaa acc aac ctc ggc ctg cac cgg ggc aac gtg atg cac			1344
Gln Trp Leu Glu Thr Asn Leu Gly Leu His Arg Gly Asn Val Met His			
435	440	445	
ctg gaa atg tcc ttc gac cag atg ttc tcc ttc cgc ccc tgg ctg aaa			1392
Leu Glu Met Ser Phe Asp Gln Met Phe Ser Phe Arg Pro Trp Leu Lys			
450	455	460	
gcf agc cag tac cgc tgg ccg ggc gtg cag ggg ctg tac ctc acc ggc			1440

135

Ala Ser Gln Tyr Arg Trp Pro Gly Val Gln Gly Leu Tyr Leu Thr Gly
465 470 475 480

gcc agc acc cac ccc ggc gga ggc atc atg ggc gcc tcg gga cgc aac 1488
Ala Ser Thr His Pro Gly Gly Ile Met Gly Ala Ser Gly Arg Asn
485 490 495

gcg gcg cgg gtc atc gtg aag gac ctg acg cgg agg cgc tgg aaa tga 1536
Ala Ala Arg Val Ile Val Lys Asp Leu Thr Arg Arg Arg Trp Lys
500 505 510

<210> 62

<211> 511

<212> PRT

<213> Deinococcus radiodurans R1

<400> 62

Met Pro Asp Tyr Asp Leu Ile Val Met Gly Ala Gly His Asn Ala Leu
1 5 10 15

Val Thr Ala Ala Tyr Ala Ala Arg Ala Gly Leu Lys Val Gly Val Phe
20 25 30

Glu Arg Arg His Leu Val Gly Gly Ala Val Ser Thr Glu Glu Val Val
35 40 45

Pro Gly Tyr Arg Phe Asp Tyr Gly Gly Ser Ala His Ile Leu Ile Arg
50 55 60

Met Thr Pro Ile Val Arg Glu Leu Glu Leu Thr Arg His Gly Leu His
65 70 75 80

Tyr Leu Glu Val Asp Pro Met Phe His Ala Ser Asp Gly Glu Thr Pro
85 90 95

Trp Phe Ile His Arg Asp Ala Gly Arg Thr Ile Arg Glu Leu Asp Glu
100 105 110

Lys Phe Pro Gly Gln Gly Asp Ala Tyr Gly Arg Phe Leu Asp Asp Trp

115

120

125

Thr Pro Phe Ala Arg Ala Val Ala Asp Leu Phe Asn Ser Ala Pro Gly

130

135

140

Pro Leu Asp Leu Gly Lys Met Val Met Arg Ser Gly Gln Gly Lys Asp

145

150

155

160

Trp Asn Glu Gln Leu Pro Arg Ile Leu Arg Pro Tyr Gly Asp Val Ala

165

170

175

Arg Glu Tyr Phe Ser Glu Glu Arg Val Arg Ala Pro Leu Thr Trp Met

180

185

190

Ala Ala Gln Ser Gly Pro Pro Pro Ser Asp Pro Leu Ser Ala Pro Phe

195

200

205

Leu Leu Trp His Pro Leu Tyr His Glu Gly Gly Val Ala Arg Pro Lys

210

215

220

Gly Gly Ser Gly Gly Leu Thr Lys Ala Leu Arg Arg Ala Thr Glu Ala

225

230

235

240

Glu Gly Gly Glu Val Phe Thr Asp Ala Pro Val Lys Glu Ile Leu Val

245

250

255

Lys Asp Gly Lys Ala Gln Gly Ile Arg Leu Glu Ser Gly Glu Thr Tyr

260

265

270

Thr Ala Arg Ala Val Val Ser Gly Val His Ile Leu Thr Thr Ala Asn

275

280

285

Ala Leu Pro Ala Glu Tyr Val Pro Ser Ala Ala Arg Asn Val Arg Val

290

295

300

Gly Asn Gly Phe Gly Met Ile Leu Arg Leu Ala Leu Ser Glu Lys Val

305

310

315

320

Lys Tyr Arg His His Thr Glu Pro Asp Ser Arg Ile Gly Leu Gly Leu
325 330 335

Leu Ile Lys Asn Glu Arg Gln Ile Met Gln Gly Tyr Gly Glu Tyr Leu
340 345 350

Ala Gly Gln Pro Thr Thr Asp Pro Pro Leu Val Ala Met Ser Phe Ser
355 360 365

Ala Val Asp Asp Ser Leu Ala Pro Pro Asn Gly Asp Val Leu Trp Leu
370 375 380

Trp Ala Gln Tyr Tyr Pro Phe Glu Leu Ala Thr Gly Ser Trp Glu Thr
385 390 395 400

Arg Thr Ala Glu Ala Arg Glu Asn Ile Leu Arg Ala Phe Glu His Tyr
405 410 415

Ala Pro Gly Thr Arg Asp Thr Ile Val Gly Glu Leu Val Gln Thr Pro
420 425 430

Gln Trp Leu Glu Thr Asn Leu Gly Leu His Arg Gly Asn Val Met His
435 440 445

Leu Glu Met Ser Phe Asp Gln Met Phe Ser Phe Arg Pro Trp Leu Lys
450 455 460

Ala Ser Gln Tyr Arg Trp Pro Gly Val Gln Gly Leu Tyr Leu Thr Gly
465 470 475 480

Ala Ser Thr His Pro Gly Gly Ile Met Gly Ala Ser Gly Arg Asn
485 490 495

Ala Ala Arg Val Ile Val Lys Asp Leu Thr Arg Arg Arg Trp Lys
500 505 510

<210> 63

<211> 789

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(789)

<223>

<400> 63			
atg aat ttt tgt gat aaa cca gtt agc tat tat gtt gca ata gag caa			48
Met Asn Phe Cys Asp Lys Pro Val Ser Tyr Tyr Val Ala Ile Glu Gln			
1	5	10	15
tta agt gct aaa gaa gat act gtt tgg ggg ctg gtg att gtc ata gta			96
Leu Ser Ala Lys Glu Asp Thr Val Trp Gly Leu Val Ile Val Ile Val			
20	25	30	
att att agt ctt tgg gta gct agt ttg gct ttt tta cta gct att aat			144
Ile Ile Ser Leu Trp Val Ala Ser Leu Ala Phe Leu Leu Ala Ile Asn			
35	40	45	
tat gcc aaa att cat aag tgg ttg ata cct att gca ata gtt tgg caa			192
Tyr Ala Lys Ile His Lys Trp Leu Ile Pro Ile Ala Ile Val Trp Gln			
50	55	60	
atg ttc ctt tat aca ggg cta ttt att act gca cat gat gct atg cat			240
Met Phe Leu Tyr Thr Gly Leu Phe Ile Thr Ala His Asp Ala Met His			
65	70	75	80
ggg tca gtt tat cgt aaa aat ccc aaa att aat aat ttt atc ggt tca			288
Gly Ser Val Tyr Arg Lys Asn Pro Lys Ile Asn Asn Phe Ile Gly Ser			
85	90	95	
cta gct gta gcg ctt tac gct gtg ttt cca tat caa cag atg tta aag			336
Leu Ala Val Ala Leu Tyr Ala Val Phe Pro Tyr Gln Gln Met Leu Lys			
100	105	110	
aat cat tgc tta cat cat cgt cat cct gct agc gaa gtt gac cca gat			384
Asn His Cys Leu His His Arg His Pro Ala Ser Glu Val Asp Pro Asp			
115	120	125	
ttt cat gat ggt aag aga aca aac gct att ttc tgg tat ctc cat ttc			432
Phe His Asp Gly Lys Arg Thr Asn Ala Ile Phe Trp Tyr Leu His Phe			
130	135	140	

atg ata gaa tac tcc agt tgg caa cag tta ata gta cta act atc cta Met Ile Glu Tyr Ser Ser Trp Gln Gln Leu Ile Val Leu Thr Ile Leu 145 150 155 160	480
ttt aat tta gct aaa tac gtt ttg cac atc cat caa ata aat ctc atc Phe Asn Leu Ala Lys Tyr Val Leu His Ile His Gln Ile Asn Leu Ile 165 170 175	528
tta ttt tgg agt att cct cca att tta agt tcc att caa ctg ttt tat Leu Phe Trp Ser Ile Pro Pro Ile Leu Ser Ser Ile Gln Leu Phe Tyr 180 185 190	576
ttc gga aca ttt ttg cct cat cga gaa ccc aag aaa gga tat gtt tat Phe Gly Thr Phe Leu Pro His Arg Glu Pro Lys Lys Gly Tyr Val Tyr 195 200 205	624
ccc cat tgc agc caa aca ata aaa ttg cca act ttt ttg tca ttt atc Pro His Cys Ser Gln Thr Ile Lys Leu Pro Thr Phe Leu Ser Phe Ile 210 215 220	672
gct tgc tac cac ttt ggt tat cat gaa gaa cat cat gag tat ccc cat Ala Cys Tyr His Phe Gly Tyr His Glu Glu His His Glu Tyr Pro His 225 230 235 240	720
gta cct tgg tgg caa ctt cca tct gta tat aag cag aga gta ttc aac Val Pro Trp Trp Gln Leu Pro Ser Val Tyr Lys Gln Arg Val Phe Asn 245 250 255	768
aat tca gta acc aat tcg taa Asn Ser Val Thr Asn Ser 260	789

<210> 64

<211> 262

<212> PRT

<213> Künstliche Sequenz

<400> 64

Met Asn Phe Cys Asp Lys Pro Val Ser Tyr Tyr Val Ala Ile Glu Gln 1 5 10 15
--

Leu Ser Ala Lys Glu Asp Thr Val Trp Gly Leu Val Ile Val Ile Val 20 25 30

Ile Ile Ser Leu Trp Val Ala Ser Leu Ala Phe Leu Leu Ala Ile Asn
35 40 45

Tyr Ala Lys Ile His Lys Trp Leu Ile Pro Ile Ala Ile Val Trp Gln
50 55 60

Met Phe Leu Tyr Thr Gly Leu Phe Ile Thr Ala His Asp Ala Met His
65 70 75 80

Gly Ser Val Tyr Arg Lys Asn Pro Lys Ile Asn Asn Phe Ile Gly Ser
85 90 95

Leu Ala Val Ala Leu Tyr Ala Val Phe Pro Tyr Gln Gln Met Leu Lys
100 105 110

Asn His Cys Leu His His Arg His Pro Ala Ser Glu Val Asp Pro Asp
115 120 125

Phe His Asp Gly Lys Arg Thr Asn Ala Ile Phe Trp Tyr Leu His Phe
130 135 140

Met Ile Glu Tyr Ser Ser Trp Gln Gln Leu Ile Val Leu Thr Ile Leu
145 150 155 160

Phe Asn Leu Ala Lys Tyr Val Leu His Ile His Gln Ile Asn Leu Ile
165 170 175

Leu Phe Trp Ser Ile Pro Pro Ile Leu Ser Ser Ile Gln Leu Phe Tyr
180 185 190

Phe Gly Thr Phe Leu Pro His Arg Glu Pro Lys Lys Gly Tyr Val Tyr
195 200 205

Pro His Cys Ser Gln Thr Ile Lys Leu Pro Thr Phe Leu Ser Phe Ile
210 215 220

Ala Cys Tyr His Phe Gly Tyr His Glu Glu His His Glu Tyr Pro His
225 230 235 240

Val Pro Trp Trp Gln Leu Pro Ser Val Tyr Lys Gln Arg Val Phe Asn
245 250 255

Asn Ser Val Thr Asn Ser
260

<210> 65

<211> 789

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(789)

<223>

<400> 65

```

atg aat ttt tgt gat aaa cca gtt agc tat tat gtt gca ata gag caa
Met Asn Phe Cys Asp Lys Pro Val Ser Tyr Tyr Val Ala Ile Glu Gln
   1           5           10          15

```

48

tta agt gct aaa gaa gat act gtt tgg ggg ctg gtg att gtc ata gta
Leu Ser Ala Lys Glu Asp Thr Val Trp Gly Leu Val Ile Val Ile Val
20 25 30

96

att att agt ctt tgg gta gct agt ttg gct ttt tta cta gct att aat
Ile Ile Ser Leu Trp Val Ala Ser Leu Ala Phe Leu Leu Ala Ile Asn
35 40 45

144

```

tat gcc aaa gtc cca att tgg ttg ata cct att gca ata gtt tgg caa
Tyr Ala Lys Val Pro Ile Trp Leu Ile Pro Ile Ala Ile Val Trp Gln
      50           55           60

```

192

atg ttc ctt tat aca ggg cta ttt att act gca cat gat gct atg cat
Met Phe Leu Tyr Thr Gly Leu Phe Ile Thr Ala His Asp Ala Met His
65 70 75 80

240

ggg tca gtt tat cgt aaa aat ccc aaa att aat aat ttt atc ggt tca

Gly Ser Val Tyr Arg Lys Asn Pro Lys Ile Asn Asn Phe Ile Gly Ser		
85	90	95
cta gct gta gcg ctt tac gct gtg ttt cca tat caa cag atg tta aag		336
Leu Ala Val Ala Leu Tyr Ala Val Phe Pro Tyr Gln Gln Met Leu Lys		
100	105	110
aat cat tgc tta cat cat cgt cat cct gct agc gat tta gac cca gat		384
Asn His Cys Leu His His Arg His Pro Ala Ser Asp Leu Asp Pro Asp		
115	120	125
ttt cat gat ggt aag aga aca aac gct att ttc tgg tat ctc cat ttc		432
Phe His Asp Gly Lys Arg Thr Asn Ala Ile Phe Trp Tyr Leu His Phe		
130	135	140
atg ata gaa tac tcc agt tgg caa cag tta ata gta cta act atc cta		480
Met Ile Glu Tyr Ser Ser Trp Gln Gln Leu Ile Val Leu Thr Ile Leu		
145	150	155
160		
ttt aat tta gct aaa tac gtt ttg cac atc cat caa ata aat ctc atc		528
Phe Asn Leu Ala Lys Tyr Val Leu His Ile His Gln Ile Asn Leu Ile		
165	170	175
tta ttt tgg agt att cct cca att tta agt tcc att caa ctg ttt tat		576
Leu Phe Trp Ser Ile Pro Pro Ile Leu Ser Ser Ile Gln Leu Phe Tyr		
180	185	190
ttc gga aca ttt ttg cct cat cga gaa ccc aag aaa gga tat gtt tat		624
Phe Gly Thr Phe Leu Pro His Arg Glu Pro Lys Lys Gly Tyr Val Tyr		
195	200	205
ccc cat tgc agc caa aca ata aaa ttg cca act ttt ttg tca ttt atc		672
Pro His Cys Ser Gln Thr Ile Lys Leu Pro Thr Phe Leu Ser Phe Ile		
210	215	220
gct tgc tac cac ttt ggt tat cat gaa gaa cat cat gag tat ccc cat		720
Ala Cys Tyr His Phe Gly Tyr His Glu Glu His His Glu Tyr Pro His		
225	230	235
240		
gta cct tgg tgg caa ctt cca tct gta tat aag cag aga gta ttc aac		768
Val Pro Trp Trp Gln Leu Pro Ser Val Tyr Lys Gln Arg Val Phe Asn		
245	250	255
aat tca gta acc aat tcg taa		789
Asn Ser Val Thr Asn Ser		
260		

<210> 66

<211> 262

<212> PRT

<213> Künstliche Sequenz

<400> 66

Met Asn Phe Cys Asp Lys Pro Val Ser Tyr Tyr Val Ala Ile Glu Gln
1 5 10 15

Leu Ser Ala Lys Glu Asp Thr Val Trp Gly Leu Val Ile Val Ile Val
20 25 30

Ile Ile Ser Leu Trp Val Ala Ser Leu Ala Phe Leu Leu Ala Ile Asn
35 40 45

Tyr Ala Lys Val Pro Ile Trp Leu Ile Pro Ile Ala Ile Val Trp Gln
50 55 60

Met Phe Leu Tyr Thr Gly Leu Phe Ile Thr Ala His Asp Ala Met His
65 70 75 80

Gly Ser Val Tyr Arg Lys Asn Pro Lys Ile Asn Asn Phe Ile Gly Ser
85 90 95

Leu Ala Val Ala Leu Tyr Ala Val Phe Pro Tyr Gln Gln Met Leu Lys
100 105 110

Asn His Cys Leu His His Arg His Pro Ala Ser Asp Leu Asp Pro Asp
115 120 125

Phe His Asp Gly Lys Arg Thr Asn Ala Ile Phe Trp Tyr Leu His Phe
130 135 140

Met Ile Glu Tyr Ser Ser Trp Gln Gln Leu Ile Val Leu Thr Ile Leu
145 150 155 160

Phe Asn Leu Ala Lys Tyr Val Leu His Ile His Gln Ile Asn Leu Ile
165 170 175

144

Leu Phe Trp Ser Ile Pro Pro Ile Leu Ser Ser Ile Gln Leu Phe Tyr

180

185

190

Phe Gly Thr Phe Leu Pro His Arg Glu Pro Lys Lys Gly Tyr Val Tyr

195

200

205

Pro His Cys Ser Gln Thr Ile Lys Leu Pro Thr Phe Leu Ser Phe Ile

210

215

220

Ala Cys Tyr His Phe Gly Tyr His Glu Glu His His Glu Tyr Pro His

225

230

235

240

Val Pro Trp Trp Gln Leu Pro Ser Val Tyr Lys Gln Arg Val Phe Asn

245

250

255

Asn Ser Val Thr Asn Ser

260

<210> 67

<211> 762

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(762)

<223>

<400> 67

atg atc cag tta gaa caa cca ctc agt cat caa gca aaa ctg act cca
Met Ile Gln Leu Glu Gln Pro Leu Ser His Gln Ala Lys Leu Thr Pro
1 5 10 15

48

gta ctg aga agt aaa tct cag ttt aag ggg ctt ttc att gct att gtc
Val Leu Arg Ser Lys Ser Gln Phe Lys Gly Leu Phe Ile Ala Ile Val
20 25 30

96

att gtt agc gca tgg gtc att agc ctg agt tta tta ctt tcc ctt gac Ile Val Ser Ala Trp Val Ile Ser Leu Ser Leu Leu Ser Leu Asp 35 40 45	144
atc tca aag att cat aag tgg atg tta ttg cct gtt ata cta tgg caa Ile Ser Lys Ile His Lys Trp Met Leu Leu Pro Val Ile Leu Trp Gln 50 55 60	192
aca ttt tta tat acg gga tta ttt att aca tct cat gat gcc atg cat Thr Phe Leu Tyr Thr Gly Leu Phe Ile Thr Ser His Asp Ala Met His 65 70 75 80	240
ggc gta gta ttt ccc caa aac acc aag att aat cat ttg att gga aca Gly Val Val Phe Pro Gln Asn Thr Lys Ile Asn His Leu Ile Gly Thr 85 90 95	288
ttg acc cta tcc ctt tat ggt ctt tta cca tat caa aaa cta ttg aaa Leu Thr Leu Ser Leu Tyr Gly Leu Leu Pro Tyr Gln Lys Leu Leu Lys 100 105 110	336
aaa cat tgg tta cac cac cac aat cca gca agc tca ata gac ccg gat Lys His Trp Leu His His Asn Pro Ala Ser Ser Ile Asp Pro Asp 115 120 125	384
ttt cac aat ggt aaa cac caa agt ttc ttt gct tgg tat ttt cat ttt Phe His Asn Gly Lys His Gln Ser Phe Phe Ala Trp Tyr Phe His Phe 130 135 140	432
atg aaa ggt tac tgg agt tgg ggg caa ata att gcg ttg act att att Met Lys Gly Tyr Trp Ser Trp Gly Gln Ile Ile Ala Leu Thr Ile Ile 145 150 155 160	480
tat aac ttt gct aaa tac ata ctc cat atc cca agt gat aat cta act Tyr Asn Phe Ala Lys Tyr Ile Leu His Ile Pro Ser Asp Asn Leu Thr 165 170 175	528
tac ttt tgg gtg cta ccc tcg ctt tta agt tca tta caa tta ttc tat Tyr Phe Trp Val Leu Pro Ser Leu Leu Ser Ser Leu Gln Leu Phe Tyr 180 185 190	576
ttt ggt act ttt tta ccc cat agt gaa cca ata ggg ggt tat gtt cag Phe Gly Thr Phe Leu Pro His Ser Glu Pro Ile Gly Gly Tyr Val Gln 195 200 205	624
cct cat tgt gcc caa aca att agc cgt cct att tgg tgg tca ttt atc Pro His Cys Ala Gln Thr Ile Ser Arg Pro Ile Trp Trp Ser Phe Ile 210 215 220	672
acg tgc tat cat ttt ggc tac cac gag gaa cat cac gaa tat cct cat Thr Cys Tyr His Phe Gly Tyr His Glu Glu His His Glu Tyr Pro His 225 230 235 240	720

att tct tgg tgg cag tta cca gaa att tac aaa gca aaa tag 762
Ile Ser Trp Trp Gln Leu Pro Glu Ile Tyr Lys Ala Lys
245 250

<210> 68

<211> 253

<212> PRT

<213> Künstliche Sequenz

<400> 68

Met Ile Gln Leu Glu Gln Pro Leu Ser His Gln Ala Lys Leu Thr Pro
1 5 10 15

Val Leu Arg Ser Lys Ser Gln Phe Lys Gly Leu Phe Ile Ala Ile Val
20 25 30

Ile Val Ser Ala Trp Val Ile Ser Leu Ser Leu Leu Leu Ser Leu Asp
35 40 45

Ile Ser Lys Ile His Lys Trp Met Leu Leu Pro Val Ile Leu Trp Gln
50 55 60

Thr Phe Leu Tyr Thr Gly Leu Phe Ile Thr Ser His Asp Ala Met His
65 70 75 80

Gly Val Val Phe Pro Gln Asn Thr Lys Ile Asn His Leu Ile Gly Thr
85 90 95

Leu Thr Leu Ser Leu Tyr Gly Leu Leu Pro Tyr Gln Lys Leu Leu Lys
100 105 110

Lys His Trp Leu His His His Asn Pro Ala Ser Ser Ile Asp Pro Asp
115 120 125

Phe His Asn Gly Lys His Gln Ser Phe Phe Ala Trp Tyr Phe His Phe
130 135 140

Met Lys Gly Tyr Trp Ser Trp Gly Gln Ile Ile Ala Leu Thr Ile Ile
145 150 155 160

Tyr Asn Phe Ala Lys Tyr Ile Leu His Ile Pro Ser Asp Asn Leu Thr
165 170 175

Tyr Phe Trp Val Leu Pro Ser Leu Leu Ser Ser Leu Gln Leu Phe Tyr
180 185 190

Phe Gly Thr Phe Leu Pro His Ser Glu Pro Ile Gly Gly Tyr Val Gln
195 200 205

Pro His Cys Ala Gln Thr Ile Ser Arg Pro Ile Trp Trp Ser Phe Ile
210 215 220

Thr Cys Tyr His Phe Gly Tyr His Glu Glu His His Glu Tyr Pro His
225 230 235 240

Ile Ser Trp Trp Gln Leu Pro Glu Ile Tyr Lys Ala Lys
245 250

<210> 69

<211> 762

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(762)

<223>

<400> 69

atg atc cag tta gaa caa cca ctc agt cat caa gca aaa ctg act cca

48

148

Met Ile Gln Leu Glu Gln Pro Leu Ser His Gln Ala Lys Leu Thr Pro			
1	5	10	15
gta ctg aga agt aaa tct cag ttt aag ggg ctt ttc att gct att gtc			96
Val Leu Arg Ser Lys Ser Gln Phe Lys Gly Leu Phe Ile Ala Ile Val			
20	25	30	
att gtt agc gca tgg gtc att agc ctg agt tta tta ctt tcc ctt gac			144
Ile Val Ser Ala Trp Val Ile Ser Leu Ser Leu Leu Ser Leu Asp			
35	40	45	
atc tca aag cta aaa ttt tgg atg tta ttg cct gtt ata cta tgg caa			192
Ile Ser Lys Leu Lys Phe Trp Met Leu Leu Pro Val Ile Leu Trp Gln			
50	55	60	
aca ttt tta tat acg gga tta ttt att aca tct cat gat gcc atg cat			240
Thr Phe Leu Tyr Thr Gly Leu Phe Ile Thr Ser His Asp Ala Met His			
65	70	75	80
ggc gta gta ttt ccc caa aac acc aag att aat cat ttg att gga aca			288
Gly Val Val Phe Pro Gln Asn Thr Lys Ile Asn His Leu Ile Gly Thr			
85	90	95	
ttg acc cta tcc ctt tat ggt ctt tta cca tat caa aaa cta ttg aaa			336
Leu Thr Leu Ser Leu Tyr Gly Leu Leu Pro Tyr Gln Lys Leu Leu Lys			
100	105	110	
aaa cat tgg tta cac cac cac aat cca gca agc gat tta gac ccg gat			384
Lys His Trp Leu His His Asn Pro Ala Ser Asp Leu Asp Pro Asp			
115	120	125	
ttt cac aat ggt aaa cac caa agt ttc ttt gct tgg tat ttt cat ttt			432
Phe His Asn Gly Lys His Gln Ser Phe Phe Ala Trp Tyr Phe His Phe			
130	135	140	
atg aaa ggt tac tgg agt tgg ggg caa ata att gcg ttg act att att			480
Met Lys Gly Tyr Trp Ser Trp Gly Gln Ile Ile Ala Leu Thr Ile Ile			
145	150	155	160
tat aac ttt gct aaa tac ata ctc cat atc cca agt gat aat cta act			528
Tyr Asn Phe Ala Lys Tyr Ile Leu His Ile Pro Ser Asp Asn Leu Thr			
165	170	175	
tac ttt tgg gtg cta ccc tcg ctt tta agt tca tta caa tta ttc tat			576
Tyr Phe Trp Val Leu Pro Ser Leu Leu Ser Ser Leu Gln Leu Phe Tyr			
180	185	190	
ttt ggt act ttt tta ccc cat agt gaa cca ata ggg ggt tat gtt cag			624
Phe Gly Thr Phe Leu Pro His Ser Glu Pro Ile Gly Gly Tyr Val Gln			
195	200	205	
cct cat tgt gcc caa aca att agc cgt cct att tgg tgg tca ttt atc			672

149

Pro His Cys Ala Gln Thr Ile Ser Arg Pro Ile Trp Trp Ser Phe Ile
210 215 220

acg tgc tat cat ttt ggc tac cac gag gaa cat cac gaa tat cct cat 720
Thr Cys Tyr His Phe Gly Tyr His Glu Glu His His Glu Tyr Pro His
225 230 235 240

att tct tgg tgg cag tta cca gaa att tac aaa gca aaa tag 762
Ile Ser Trp Trp Gln Leu Pro Glu Ile Tyr Lys Ala Lys
245 250

<210> 70

<211> 253

<212> PRT

<213> Künstliche Sequenz

<400> 70

Met Ile Gln Leu Glu Gln Pro Leu Ser His Gln Ala Lys Leu Thr Pro
1 5 10 15

Val Leu Arg Ser Lys Ser Gln Phe Lys Gly Leu Phe Ile Ala Ile Val
20 25 30

Ile Val Ser Ala Trp Val Ile Ser Leu Ser Leu Leu Ser Leu Asp
35 40 45

Ile Ser Lys Leu Lys Phe Trp Met Leu Leu Pro Val Ile Leu Trp Gln
50 55 60

Thr Phe Leu Tyr Thr Gly Leu Phe Ile Thr Ser His Asp Ala Met His
65 70 75 80

Gly Val Val Phe Pro Gln Asn Thr Lys Ile Asn His Leu Ile Gly Thr
85 90 95

Leu Thr Leu Ser Leu Tyr Gly Leu Leu Pro Tyr Gln Lys Leu Leu Lys
100 105 110

150

Lys His Trp Leu His His Asn Pro Ala Ser Asp Leu Asp Pro Asp
115 120 125

Phe His Asn Gly Lys His Gln Ser Phe Phe Ala Trp Tyr Phe His Phe
130 135 140

Met Lys Gly Tyr Trp Ser Trp Gly Gln Ile Ile Ala Leu Thr Ile Ile
145 150 155 160

Tyr Asn Phe Ala Lys Tyr Ile Leu His Ile Pro Ser Asp Asn Leu Thr
165 170 175

Tyr Phe Trp Val Leu Pro Ser Leu Leu Ser Ser Leu Gln Leu Phe Tyr
180 185 190

Phe Gly Thr Phe Leu Pro His Ser Glu Pro Ile Gly Gly Tyr Val Gln
195 200 205

Pro His Cys Ala Gln Thr Ile Ser Arg Pro Ile Trp Trp Ser Phe Ile
210 215 220

Thr Cys Tyr His Phe Gly Tyr His Glu Glu His His Glu Tyr Pro His
225 230 235 240

Ile Ser Trp Trp Gln Leu Pro Glu Ile Tyr Lys Ala Lys
245 250

<210> 71

<211> 804

<212> DNA

<213> Künstliche Variante

<220>

<221> CDS

<222> (1)...(804)

<223>

<400> 71
 atg aaa acg aca aga tct att tcg tgg cca tcg act tgc tgg cat cac 48
 Met Lys Thr Thr Arg Ser Ile Ser Trp Pro Ser Thr Cys Trp His His
 1 5 10 15

 cag ccg agt tgc tca agc tgg gtg gca aat gag ttc agc cct cag gcc 96
 Gln Pro Ser Cys Ser Ser Trp Val Ala Asn Glu Phe Ser Pro Gln Ala
 20 . 25 30

 ctc aaa ggg ttg gct ctg gct ggt ctg att gga tca gcc tgg ctg ctc 144
 Leu Lys Gly Leu Ala Leu Ala Gly Leu Ile Gly Ser Ala Trp Leu Leu
 35 40 45

 tcc ctg ggc ctg agc tac acc ctg cca ctt gat cag acg cct ggg ctg 192
 Ser Leu Gly Leu Ser Tyr Thr Leu Pro Leu Asp Gln Thr Pro Gly Leu
 50 55 60

 ttg att ggc agc ttg att ctg tgg cag acc ttt ctg cac acc ggg ctg 240
 Leu Ile Gly Ser Leu Ile Leu Trp Gln Thr Phe Leu His Thr Gly Leu
 65 70 75 80

 ttc atc gtt gcc cac gat tcc atg cac gcc agt ctg gtt ccg ggt cat 288
 Phe Ile Val Ala His Asp Ser Met His Ala Ser Leu Val Pro Gly His
 85 90 95

 ccc gga ttg aac cgc tgg atc ggc aaa gtg tat ttg ttg gtg tat gca 336
 Pro Gly Leu Asn Arg Trp Ile Gly Lys Val Tyr Leu Leu Val Tyr Ala
 100 105 110

 ggc ttg tct tat gag cgt tgt tcc cgc aac cac aga cgt cat cac ctg 384
 Gly Leu Ser Tyr Glu Arg Cys Ser Arg Asn His Arg Arg His His Leu
 115 120 125

 gca ccc gag acg ttc cag gat cct gac tac caa cgt tgc acc aat aac 432
 Ala Pro Glu Thr Phe Gln Asp Pro Asp Tyr Gln Arg Cys Thr Asn Asn
 130 135 140

 aac atc cta gat tgg tat gtt cac ttc atg ggc aac tat ctg ggc atg 480
 Asn Ile Leu Asp Trp Tyr Val His Phe Met Gly Asn Tyr Leu Gly Met
 145 150 155 160

 cgg caa ctg tta aat cta agc tgt ctt tgg ctg gcg cta atc att ctc 528
 Arg Gln Leu Leu Asn Leu Ser Cys Leu Trp Leu Ala Leu Ile Ile Leu
 165 170 175

 aac ggt tct gat ctc cct gct cag atc atg cat ctg ctg ttg ttc agc 576
 Asn Gly Ser Asp Leu Pro Ala Gln Ile Met His Leu Leu Phe Ser
 180 185 190

gtt ctg ccg ttg atc atc agt tcc tgt caa ttg ttt cta gtg gga acc 624
 Val Leu Pro Leu Ile Ile Ser Ser Cys Gln Leu Phe Leu Val Gly Thr
 195 200 205

tgg tta ccc cac cga cgt ggg gcc acg aca cga ccg ggc gtg aca acg 672
 Trp Leu Pro His Arg Arg Gly Ala Thr Thr Arg Pro Gly Val Thr Thr
 210 215 220

cgc agc ctg gct ttg cat cca gcc ctc tct ttc gca gct tgt tac aac 720
 Arg Ser Leu Ala Leu His Pro Ala Leu Ser Phe Ala Ala Cys Tyr Asn
 225 230 235 240

ttt ggc tat cat cgt gaa cat cat gaa tcg cct tcc aca ccc tgg ttt 768
 Phe Gly Tyr His Arg Glu His His Glu Ser Pro Ser Thr Pro Trp Phe
 245 250 255

cag ctg ccacaa ctt cga aat gaa tca ttc act tga 804
 Gln Leu Pro Gln Leu Arg Asn Glu Ser Phe Thr
 260 265

<210> 72

<211> 267

<212> PRT

<213> Künstliche Variante

<400> 72

Met Lys Thr Thr Arg Ser Ile Ser Trp Pro Ser Thr Cys Trp His His
 1 5 10 15

Gln Pro Ser Cys Ser Ser Trp Val Ala Asn Glu Phe Ser Pro Gln Ala
 20 25 30

Leu Lys Gly Leu Ala Leu Ala Gly Leu Ile Gly Ser Ala Trp Leu Leu
 35 40 45

Ser Leu Gly Leu Ser Tyr Thr Leu Pro Leu Asp Gln Thr Pro Gly Leu
 50 55 60

Leu Ile Gly Ser Leu Ile Leu Trp Gln Thr Phe Leu His Thr Gly Leu
 65 70 75 80

Phe Ile Val Ala His Asp Ser Met His Ala Ser Leu Val Pro Gly His
85 90 95

Pro Gly Leu Asn Arg Trp Ile Gly Lys Val Tyr Leu Leu Val Tyr Ala
100 105 110

Gly Leu Ser Tyr Glu Arg Cys Ser Arg Asn His Arg Arg His His Leu
115 120 125

Ala Pro Glu Thr Phe Gln Asp Pro Asp Tyr Gln Arg Cys Thr Asn Asn
130 135 140

Asn Ile Leu Asp Trp Tyr Val His Phe Met Gly Asn Tyr Leu Gly Met
145 150 155 160

Arg Gln Leu Leu Asn Leu Ser Cys Leu Trp Leu Ala Leu Ile Ile Leu
165 170 175

Asn Gly Ser Asp Leu Pro Ala Gln Ile Met His Leu Leu Leu Phe Ser
180 185 190

Val Leu Pro Leu Ile Ile Ser Ser Cys Gln Leu Phe Leu Val Gly Thr
195 200 205

Trp Leu Pro His Arg Arg Gly Ala Thr Thr Arg Pro Gly Val Thr Thr
210 215 220

Arg Ser Leu Ala Leu His Pro Ala Leu Ser Phe Ala Ala Cys Tyr Asn
225 230 235 240

Phe Gly Tyr His Arg Glu His His Glu Ser Pro Ser Thr Pro Trp Phe
245 250 255

Gln Leu Pro Gln Leu Arg Asn Glu Ser Phe Thr
260 265

<211> 804

<212> DNA

<213> Künstliche Variante

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(804)

<223>

<400>	73		48
atg aaa acg aca aga tct att tcg tgg cca tcg act tgc tgg cat cac			
Met Lys Thr Thr Arg Ser Ile Ser Trp Pro Ser Thr Cys Trp His His			
1	5	10	15
cag ccg agt tgc tca agc tgg gtg gca aat gag ttc agc cct cag gcc			96
Gln Pro Ser Cys Ser Ser Trp Val Ala Asn Glu Phe Ser Pro Gln Ala			
20	25	30	
ctc aaa ggg ttg gct ctg gct ggt ctg att gga tca gcc tgg ctg ctc			144
Leu Lys Gly Leu Ala Leu Ala Gly Leu Ile Gly Ser Ala Trp Leu Leu			
35	40	45	
tcc ctg ggc ctg agc tac acc ctg cca ctt gat cag acg cct ggg ctg			192
Ser Leu Gly Leu Ser Tyr Thr Leu Pro Leu Asp Gln Thr Pro Gly Leu			
50	55	60	
ttg att ggc agc ttg att ctg ctc aga gca ttt ctg cac acc ggg ctg			240
Leu Ile Gly Ser Leu Ile Leu Leu Arg Ala Phe Leu His Thr Gly Leu			
65	70	75	80
tcc atc gtt gcc cac gat tcc atg cac gcc agt ctg gtt ccg ggt cat			288
Phe Ile Val Ala His Asp Ser Met His Ala Ser Leu Val Pro Gly His			
85	90	95	
ccc gga ttg aac cgc tgg atc ggc aaa gtg tat ttg ttg gtg tat gca			336
Pro Gly Leu Asn Arg Trp Ile Gly Lys Val Tyr Leu Leu Val Tyr Ala			
100	105	110	
ggc ttg tct tat gag cgt tgt tcc cgc aac cac aga cgt cat cac gga			384
Gly Leu Ser Tyr Glu Arg Cys Ser Arg Asn His Arg Arg His His Gly			
115	120	125	
cat cct ggt act gat tta gat cct gac tac caa cgt tgc acc aat aac			432

155

His Pro Gly Thr Asp Leu Asp Pro Asp Tyr Gln Arg Cys Thr Asn Asn			
130	135	140	
aac atc cta gat tgg tat gtt cac ttc atg ggc aac tat ctg ggc atg			480
Asn Ile Leu Asp Trp Tyr Val His Phe Met Gly Asn Tyr Leu Gly Met			
145	150	155	160
cgg caa ctg tta aat cta agc tgt ctt tgg ctg gcg cta atc att ctc			528
Arg Gln Leu Leu Asn Leu Ser Cys Leu Trp Leu Ala Leu Ile Ile Leu			
165	170	175	
aac ggt tct gat ctc cct gct cag atc atg cat ctg ctg ttg ttc agc			576
Asn Gly Ser Asp Leu Pro Ala Gln Ile Met His Leu Leu Leu Phe Ser			
180	185	190	
gtt ctg ccg ttg atc atc agt tcc tgt caa ttg ttt cta gtg gga acc			624
Val Leu Pro Leu Ile Ile Ser Ser Cys Gln Leu Phe Leu Val Gly Thr			
195	200	205	
tgg tta ccc cac cga cgt ggg gcc acg aca cga ccg ggc gtg aca acg			672
Trp Leu Pro His Arg Arg Gly Ala Thr Thr Arg Pro Gly Val Thr Thr			
210	215	220	
cgc agc ctg gct ttg cat cca gcc ctc tct ttc gca gct tgt tac aac			720
Arg Ser Leu Ala Leu His Pro Ala Leu Ser Phe Ala Ala Cys Tyr Asn			
225	230	235	240
ttt ggc tat cat cgt gaa cat cat gaa tcg cct tcc aca ccc tgg ttt			768
Phe Gly Tyr His Arg Glu His His Glu Ser Pro Ser Thr Pro Trp Phe			
245	250	255	
cag ctg cca caa ctt cga aat gaa tca ttc act tga			804
Gln Leu Pro Gln Leu Arg Asn Glu Ser Phe Thr			
260	265		

<210> 74

<211> 267

<212> PRT

<213> Künstliche Variante

<400> 74

Met Lys Thr Thr Arg Ser Ile Ser Trp Pro Ser Thr Cys Trp His His			
1	5	10	15

156

Gln Pro Ser Cys Ser Ser Trp Val Ala Asn Glu Phe Ser Pro Gln Ala
20 25 30

Leu Lys Gly Leu Ala Leu Ala Gly Leu Ile Gly Ser Ala Trp Leu Leu
35 40 45

Ser Leu Gly Leu Ser Tyr Thr Leu Pro Leu Asp Gln Thr Pro Gly Leu
50 55 60

Leu Ile Gly Ser Leu Ile Leu Leu Arg Ala Phe Leu His Thr Gly Leu
65 70 75 80

Phe Ile Val Ala His Asp Ser Met His Ala Ser Leu Val Pro Gly His
85 90 95

Pro Gly Leu Asn Arg Trp Ile Gly Lys Val Tyr Leu Leu Val Tyr Ala
100 105 110

Gly Leu Ser Tyr Glu Arg Cys Ser Arg Asn His Arg Arg His His Gly
115 120 125

His Pro Gly Thr Asp Leu Asp Pro Asp Tyr Gln Arg Cys Thr Asn Asn
130 135 140

Asn Ile Leu Asp Trp Tyr Val His Phe Met Gly Asn Tyr Leu Gly Met
145 150 155 160

Arg Gln Leu Leu Asn Leu Ser Cys Leu Trp Leu Ala Leu Ile Ile Leu
165 170 175

Asn Gly Ser Asp Leu Pro Ala Gln Ile Met His Leu Leu Leu Phe Ser
180 185 190

Val Leu Pro Leu Ile Ile Ser Ser Cys Gln Leu Phe Leu Val Gly Thr
195 200 205

Trp Leu Pro His Arg Arg Gly Ala Thr Thr Arg Pro Gly Val Thr Thr
210 215 220

Arg Ser Leu Ala Leu His Pro Ala Leu Ser Phe Ala Ala Cys Tyr Asn
 225 230 235 240

Phe Gly Tyr His Arg Glu His His Glu Ser Pro Ser Thr Pro Trp Phe
 245 250 255

Gln Leu Pro Gln Leu Arg Asn Glu Ser Phe Thr
 260 265

<210> 75

<211> 804

<212> DNA

<213> Synechococcus WH8102

<220>

<221> CDS

<222> (1)...(804)

<223>

<400> 75
 atg aaa acg aca aga tct att tcg tgg cca tcg act tgc tgg cat cac 48
 Met Lys Thr Thr Arg Ser Ile Ser Trp Pro Ser Thr Cys Trp His His
 1 5 10 15

cag ccg agt tgc tca agc tgg gtg gca aat gag ttc agc cct cag gcc 96
 Gln Pro Ser Cys Ser Ser Trp Val Ala Asn Glu Phe Ser Pro Gln Ala
 20 25 30

ctc aaa ggg ttg gct ctg gct ggt ctg att gga tca gcc tgg ctg ctc 144
 Leu Lys Gly Leu Ala Leu Ala Gly Leu Ile Gly Ser Ala Trp Leu Leu
 35 40 45

tcc ctg ggc ctg agc tac acc ctg cca ctt gat cag acg cct ggg ctg 192
 Ser Leu Gly Leu Ser Tyr Thr Leu Pro Leu Asp Gln Thr Pro Gly Leu
 50 55 60

ttg att ggc agc ttg att ctg ctc aga gca ttt ctg cac acc ggg ctg 240
 Leu Ile Gly Ser Leu Ile Leu Leu Arg Ala Phe Leu His Thr Gly Leu
 65 70 75 80

ttc atc gtt gcc cac gat tcc atg cac gcc agt ctg gtt ccg ggt cat Phe Ile Val Ala His Asp Ser Met His Ala Ser Leu Val Pro Gly His	85	90	95	288
ccc gga ttg aac cgc tgg atc ggc aaa gtg tat ttg ttg gtg tat gca Pro Gly Leu Asn Arg Trp Ile Gly Lys Val Tyr Leu Leu Val Tyr Ala	100	105	110	336
ggc ttg tct tat gag cgt tgt tcc cgc aac cac aga cgt cat cac ctg Gly Leu Ser Tyr Glu Arg Cys Ser Arg Asn His Arg Arg His His Leu	115	120	125	384
gca ccg gag acg ttc cag gat cct gac tac caa cgt tgc acc aat aac Ala Pro Glu Thr Phe Gln Asp Pro Asp Tyr Gln Arg Cys Thr Asn Asn	130	135	140	432
aac atc cta gat tgg tat gtt cac ttc atg ggc aac tat ctg ggc atg Asn Ile Leu Asp Trp Tyr Val His Phe Met Gly Asn Tyr Leu Gly Met	145	150	155	480
cgg caa ctg tta aat cta agc tgt ctt tgg ctg gcg cta atc att ctc Arg Gln Leu Leu Asn Leu Ser Cys Leu Trp Leu Ala Leu Ile Ile Leu	165	170	175	528
aac ggt tct gat ctc cct gct cag atc atg cat ctg ctg ttg ttc agc Asn Gly Ser Asp Leu Pro Ala Gln Ile Met His Leu Leu Leu Phe Ser	180	185	190	576
gtt ctg ccg ttg atc atc agt tcc tgt caa ttg ttt cta gtg gga acc Val Leu Pro Leu Ile Ile Ser Ser Cys Gln Leu Phe Leu Val Gly Thr	195	200	205	624
tgg tta ccc cac cga cgt ggg gcc acg aca cga ccg ggc gtg aca acg Trp Leu Pro His Arg Arg Gly Ala Thr Thr Arg Pro Gly Val Thr Thr	210	215	220	672
cgc agc ctg gct ttg cat cca gcc ctc tct ttc gca gct tgt tac aac Arg Ser Leu Ala Leu His Pro Ala Leu Ser Phe Ala Ala Cys Tyr Asn	225	230	235	720
ttt ggc tat cat cgt gaa cat cat gaa tcg cct tcc aca ccc tgg ttt Phe Gly Tyr His Arg Glu His His Glu Ser Pro Ser Thr Pro Trp Phe	245	250	255	768
cag ctg cca caa ctt cga aat gaa tca ttc act tga Gln Leu Pro Gln Leu Arg Asn Glu Ser Phe Thr	260	265		804

159

<211> 267

<212> PRT

<213> Synechococcus WH8102

<400> 76

Met Lys Thr Thr Arg Ser Ile Ser Trp Pro Ser Thr Cys Trp His His
1 5 10 15

Gln Pro Ser Cys Ser Ser Trp Val Ala Asn Glu Phe Ser Pro Gln Ala
20 25 30

Leu Lys Gly Leu Ala Leu Ala Gly Leu Ile Gly Ser Ala Trp Leu Leu
35 40 45

Ser Leu Gly Leu Ser Tyr Thr Leu Pro Leu Asp Gln Thr Pro Gly Leu
50 55 60

Leu Ile Gly Ser Leu Ile Leu Leu Arg Ala Phe Leu His Thr Gly Leu
65 70 75 80

Phe Ile Val Ala His Asp Ser Met His Ala Ser Leu Val Pro Gly His
85 90 95

Pro Gly Leu Asn Arg Trp Ile Gly Lys Val Tyr Leu Leu Val Tyr Ala
100 105 110

Gly Leu Ser Tyr Glu Arg Cys Ser Arg Asn His Arg Arg His His Leu
115 120 125

Ala Pro Glu Thr Phe Gln Asp Pro Asp Tyr Gln Arg Cys Thr Asn Asn
130 135 140

Asn Ile Leu Asp Trp Tyr Val His Phe Met Gly Asn Tyr Leu Gly Met
145 150 155 160

Arg Gln Leu Leu Asn Leu Ser Cys Leu Trp Leu Ala Leu Ile Ile Leu
165 170 175

Asn Gly Ser Asp Leu Pro Ala Gln Ile Met His Leu Leu Leu Phe Ser
180 185 190

Val Leu Pro Leu Ile Ile Ser Ser Cys Gln Leu Phe Leu Val Gly Thr
195 200 205

Trp Leu Pro His Arg Arg Gly Ala Thr Thr Arg Pro Gly Val Thr Thr
210 215 220

Arg Ser Leu Ala Leu His Pro Ala Leu Ser Phe Ala Ala Cys Tyr Asn
225 230 235 240

Phe Gly Tyr His Arg Glu His His Glu Ser Pro Ser Thr Pro Trp Phe
245 250 255

Gln Leu Pro Gln Leu Arg Asn Glu Ser Phe Thr
260 265

<210> 77

<211> 1608

<212> DNA

<213> Haematococcus pluvialis

<220>

<221> CDS

<222> (3) .. (971)

<223>

<400> 77
ct aca ttt cac aag ccc gtg agc ggt gca agc gct ctg ccc cac atc 47
Thr Phe His Lys Pro Val Ser Gly Ala Ser Ala Leu Pro His Ile
1 5 10 15

ggc cca cct cct cat ctc cat cgg tca ttt gct gct acc acg atg ctg 95

161

Gly Pro Pro Pro His Leu His Arg Ser Phe Ala Ala Thr Thr Met Leu				
20	25	30		
tcg aag ctg cag tca atc agc gtc aag gcc cgc cgc gtt gaa cta gcc				143
Ser Lys Leu Gln Ser Ile Ser Val Lys Ala Arg Arg Val Glu Leu Ala				
35	40	45		
cgc gac atc acg cgg ccc aaa gtc tgc ctg cat gct cag cgg tgc tcg				191
Arg Asp Ile Thr Arg Pro Lys Val Cys Leu His Ala Gln Arg Cys Ser				
50	55	60		
tta gtt cgg ctg cga gtg gca gca cca cag aca gag gag gcg ctg gga				239
Leu Val Arg Leu Arg Val Ala Ala Pro Gln Thr Glu Glu Ala Leu Gly				
65	70	75		
acc gtg cag gct gcc ggc gcg ggc gat gag cac agc gcc gat gta gca				287
Thr Val Gln Ala Ala Gly Ala Gly Asp Glu His Ser Ala Asp Val Ala				
80	85	90	95	
ctc cag cag ctt gac cgg gct atc gca gag cgt cgt gcc cgg cgc aaa				335
Leu Gln Gln Leu Asp Arg Ala Ile Ala Glu Arg Arg Ala Arg Arg Lys				
100	105	110		
cg ^g gag cag ctg tca tac cag gct gcc gcc att gca gca tca att ggc				383
Arg Glu Gln Leu Ser Tyr Gln Ala Ala Ile Ala Ala Ser Ile Gly				
115	120	125		
gtg tca ggc att gcc atc ttc gcc acc tac ctg aga ttt gcc atg cac				431
Val Ser Gly Ile Ala Ile Phe Ala Thr Tyr Leu Arg Phe Ala Met His				
130	135	140		
atg acc gtg ggc gca gtg cca tgg ggt gaa gtg gct ggc act ctc				479
Met Thr Val Gly Gly Ala Val Pro Trp Gly Glu Val Ala Gly Thr Leu				
145	150	155		
ctc ttg gtg gtt ggt ggc gcg ctc ggc atg gag atg tat gcc cgc tat				527
Leu Leu Val Val Gly Gly Ala Leu Gly Met Glu Met Tyr Ala Arg Tyr				
160	165	170	175	
gca cac aaa gcc atc tgg cat gag tcg cct ctg ggc tgg ctg ctg cac				575
Ala His Lys Ala Ile Trp His Glu Ser Pro Leu Gly Trp Leu Leu His				
180	185	190		
aag agc cac cac aca cct cgc act gga ccc ttt gaa gcc aac gac ttg				623
Lys Ser His His Thr Pro Arg Thr Gly Pro Phe Glu Ala Asn Asp Leu				
195	200	205		
ttt gca atc atc aat gga ctg ccc gcc atg ctc ctg tgt acc ttt ggc				671
Phe Ala Ile Ile Asn Gly Leu Pro Ala Met Leu Leu Cys Thr Phe Gly				
210	215	220		
ttc tgg ctg ccc aac gtc ctg ggg gcg gcc tgc ttt gga gcg ggg ctg				719

Phe Trp Leu Pro Asn Val Leu Gly Ala Ala Cys Phe Gly Ala Gly Leu		
225	230	235
ggc atc acg cta tac ggc atg gca tat atg ttt gta cac gat ggc ctg		767
Gly Ile Thr Leu Tyr Gly Met Ala Tyr Met Phe Val His Asp Gly Leu		
240	245	250
gtg cac agg cgc ttt ccc acc ggg ccc atc gct ggc ctg ccc tac atg		815
Val His Arg Arg Phe Pro Thr Gly Pro Ile Ala Gly Leu Pro Tyr Met		
260	265	270
aag cgc ctg aca gtg gcc cac cag cta cac cac agc ggc aag tac ggt		863
Lys Arg Leu Thr Val Ala His Gln Leu His His Ser Gly Lys Tyr Gly		
275	280	285
ggc gcg ccc tgg ggt atg ttc ttg ggt cca cag gag ctg cag cac att		911
Gly Ala Pro Trp Gly Met Phe Leu Gly Pro Gln Glu Leu Gln His Ile		
290	295	300
cca ggt gcg gcg gag gag gtg gag cga ctg gtc ctg gaa ctg gac tgg		959
Pro Gly Ala Ala Glu Glu Val Glu Arg Leu Val Leu Glu Leu Asp Trp		
305	310	315
tcc aag cgg tag ggtgcggaac caggcacgct ggttcacac ctcatgcctg		1011
Ser Lys Arg		
320		
tgataaggtg tggctagagc gatgcgtgtg agacgggtat gtcacggtcg actggctga		1071
tggccaatgg catcgccat gtctggcat cacggctgg ttgcctgggt gaaggtgatg		1131
cacatcatca tgtgcggttg gaggggctgg cacagtgtgg gctgaactgg agcagttgtc		1191
caggctggcg ttgaatcagt gagggttgt gattggcggt tgtgaagcaa tgactccgcc		1251
catattctat ttgtgggagc tgagatgatg gcatgcttgg gatgtgcattg gatcatggta		1311
gtgcagcaaa ctatattcac cttagggctgt tggtaggatc aggtgaggcc ttgcacattg		1371
catgatgtac tcgtcatgtt gtgttgtga gaggatggat gtggatggat gtgtattctc		1431
agacgttagac cttgactgga ggcttgatcg agagagtggg ccgtattctt tgagagggga		1491
ggctcgtgcc agaaatggtg agtggatgac tgtgacgctg tacattgcag gcaggtgaga		1551
tgcactgtct cgattgtaaa atacatttag atgcaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaa		1608

<212> PRT

<213> Haematococcus pluvialis

<400> 78

Thr Phe His Lys Pro Val Ser Gly Ala Ser Ala Leu Pro His Ile Gly
1 5 10 15

Pro Pro Pro His Leu His Arg Ser Phe Ala Ala Thr Thr Met Leu Ser
20 25 30

Lys Leu Gln Ser Ile Ser Val Lys Ala Arg Arg Val Glu Leu Ala Arg
35 40 45

Asp Ile Thr Arg Pro Lys Val Cys Leu His Ala Gln Arg Cys Ser Leu
50 55 60

Val Arg Leu Arg Val Ala Ala Pro Gln Thr Glu Glu Ala Leu Gly Thr
65 70 75 80

Val Gln Ala Ala Gly Ala Gly Asp Glu His Ser Ala Asp Val Ala Leu
85 90 95

Gln Gln Leu Asp Arg Ala Ile Ala Glu Arg Arg Ala Arg Arg Lys Arg
100 105 110

Glu Gln Leu Ser Tyr Gln Ala Ala Ala Ile Ala Ala Ser Ile Gly Val
115 120 125

Ser Gly Ile Ala Ile Phe Ala Thr Tyr Leu Arg Phe Ala Met His Met
130 135 140

Thr Val Gly Gly Ala Val Pro Trp Gly Glu Val Ala Gly Thr Leu Leu
145 150 155 160

Leu Val Val Gly Gly Ala Leu Gly Met Glu Met Tyr Ala Arg Tyr Ala
165 170 175

164

His Lys Ala Ile Trp His Glu Ser Pro Leu Gly Trp Leu Leu His Lys
180 185 190

Ser His His Thr Pro Arg Thr Gly Pro Phe Glu Ala Asn Asp Leu Phe
195 200 205

Ala Ile Ile Asn Gly Leu Pro Ala Met Leu Leu Cys Thr Phe Gly Phe
210 215 220

Trp Leu Pro Asn Val Leu Gly Ala Ala Cys Phe Gly Ala Gly Leu Gly
225 230 235 240

Ile Thr Leu Tyr Gly Met Ala Tyr Met Phe Val His Asp Gly Leu Val
245 250 255

His Arg Arg Phe Pro Thr Gly Pro Ile Ala Gly Leu Pro Tyr Met Lys
260 265 270

Arg Leu Thr Val Ala His Gln Leu His His Ser Gly Lys Tyr Gly Gly
275 280 285

Ala Pro Trp Gly Met Phe Leu Gly Pro Gln Glu Leu Gln His Ile Pro
290 295 300

Gly Ala Ala Glu Glu Val Glu Arg Leu Val Leu Glu Leu Asp Trp Ser
305 310 315 320

Lys Arg

<210> 79

<211> 33

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<221> primer_bind

<222> (1)..(33)

<223>

<400> 79

gcatgctcta gaccttataa agatattttg tga

33

<210> 80

<211> 33

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<221> primer_bind

<222> (1)..(33)

<223>

<400> 80

gcatgcatct agaaatgggtt cagtgtcaac cat

33

<210> 81

<211> 805

<212> DNA

<213> Nostoc sp. Strain PCC7120

<220>

<221> variation

<222> (1)..(805)

<223>

<400> 81
gcatgcacatc agaaaatggtt cagtgtcaac catcatctct gcattcagaa aaactggtgt 60
tattgtcatc gacaatcaga gatgataaaa atattaataa gggtatattt attgcctgct 120
ttatcttatt tttatggca attagtttaa tcttattact ctcaatagat acatccataa 180
ttcataagag cttatttagt atagccatgc tttggcagac cttcttatat acaggttat 240
ttattactgc tcatgatgcc atgcacggcg tagtttatcc caaaaatccc agaataaata 300
attttataagg taagctcaact ctaatcttgc atggactact cccttataaa gatttattga 360
aaaaaacattg gttacaccac ggacatcctg gtactgattt agaccctgat tattacaatg 420
gtcatccccca aaacttcttt ctgggtatc tacattttt gaagtcttat tggcgatgga 480
cgcaaatttt cggttagtg atgatttttc atggacttaa aaatctggtg catataccag 540
aaaataattt aattatattt tggatgatac cttctatattt aagttcagta caactatttt 600
attttggtagt atttttgcct cataaaaagc tagaagggtgg ttatactaac ccccatgtg 660
cgcgcagtat cccattacct cttttttggc ctgggttac ttgttattcac ttggctacc 720
acaaggaaca tcacgaatac cctcaacttc cttggtgaa attacctgaa gtcacaaaaa 780
tatctttata aggtcttagag catgc 805

<210> 82

<211> 24

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<221> primer_bind

<222> (1)..(24)

<223>

<400> 82
aggtaaccgca cggctctgccca atcc

24

<210> 83

<211> 26

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<221> primer_bind

<222> (1)..(26)

<223>

<400> 83
aagcttgacc tgattatcag cacggt

26

<210> 84

<211> 4624

<212> DNA

<213> Erwinia uredovora

<220>

<221> CDS

<222> (128)..(1267)

<223>

<220>

<221> misc_feature

<222> (1288) .. (2766)

<223>

<220>

<221> misc_feature

<222> (2802) .. (3689)

<223>

<220>

<221> misc_feature

<222> (3631) .. (4158)

<223>

<400> 84

gtcgactttc agcagcgcattgcgaaaatc cagacagccc ttctgttggc agggggcacc 60

atggccgctg ccgatatcat tgagcaggtt atgtgcaccc gtcagcctgt cttaagtggg 120

agcggct atg caa ccg cat tat gat ctg att ctc gtg ggg gct gga ctc 169
Met Gln Pro His Tyr Asp Leu Ile Leu Val Gly Ala Gly Leu
1 5 10

gcg aat ggc ctt atc gcc ctg cgt ctt cag cag caa cct gat atg 217
Ala Asn Gly Leu Ile Ala Leu Arg Leu Gln Gln Gln Pro Asp Met
15 20 25 30

cgt att ttg ctt atc gac gcc gca ccc cag gcg ggc ggg aat cat acg 265
Arg Ile Leu Leu Ile Asp Ala Ala Pro Gln Ala Gly Gly Asn His Thr
35 40 45

tgg tca ttt cac cac gat gat ttg act gag agc caa cat cgt tgg ata 313
Trp Ser Phe His His Asp Asp Leu Thr Glu Ser Gln His Arg Trp Ile
50 55 60

gct ccg ctg gtg gtt cat cac tgg ccc gac tat cag gta cgc ttt ccc 361
Ala Pro Leu Val Val His His Trp Pro Asp Tyr Gln Val Arg Phe Pro
65 70 75

aca cgc cgt cgt aag ctg aac agc ggc tac ttt tgt att act tct cag	409		
Thr Arg Arg Arg Lys Leu Asn Ser Gly Tyr Phe Cys Ile Thr Ser Gln			
80	85	90	
cgt ttc gct gag gtt tta cag cga cag ttt ggc ccg cac ttg tgg atg	457		
Arg Phe Ala Glu Val Leu Gln Arg Gln Phe Gly Pro His Leu Trp Met			
95	100	105	110
gat acc gcg gtc gca gag gtt aat gcg gaa tct gtt cgg ttg aaa aag	505		
Asp Thr Ala Val Ala Glu Val Asn Ala Glu Ser Val Arg Leu Lys Lys			
115	120	125	
ggt cag gtt atc ggt gcc cgc gcg gtg att gac ggg cgg ggt tat gcg	553		
Gly Gln Val Ile Gly Ala Arg Ala Val Ile Asp Gly Arg Gly Tyr Ala			
130	135	140	
gca aat tca gca ctg agc gtg ggc ttc cag gcg ttt att ggc cag gaa	601		
Ala Asn Ser Ala Leu Ser Val Gly Phe Gln Ala Phe Ile Gly Gln Glu			
145	150	155	
tgg cga ttg agc cac ccg cat ggt tta tcg tct ccc att atc atg gat	649		
Trp Arg Leu Ser His Pro His Gly Leu Ser Ser Pro Ile Ile Met Asp			
160	165	170	
gcc acg gtc gat cag caa aat ggt tat cgc ttc gtg tac agc ctg ccg	697		
Ala Thr Val Asp Gln Gln Asn Gly Tyr Arg Phe Val Tyr Ser Leu Pro			
175	180	185	190
ctc tcg ccg acc aga ttg tta att gaa gac acg cac tat att gat aat	745		
Leu Ser Pro Thr Arg Leu Leu Ile Glu Asp Thr His Tyr Ile Asp Asn			
195	200	205	
gcg aca tta gat cct gaa tgc gcg cgg caa aat att tgc gac tat gcc	793		
Ala Thr Leu Asp Pro Glu Cys Ala Arg Gln Asn Ile Cys Asp Tyr Ala			
210	215	220	
gcg caa cag ggt tgg cag ctt cag aca ctg ctg cga gaa gaa cag ggc	841		
Ala Gln Gln Gly Trp Gln Leu Gln Thr Leu Leu Arg Glu Glu Gln Gly			
225	230	235	
gcc tta ccc att act ctg tcg ggc aat gcc gac gca ttc tgg cag cag	889		
Ala Leu Pro Ile Thr Leu Ser Gly Asn Ala Asp Ala Phe Trp Gln Gln			
240	245	250	
cgc ccc ctg gcc tgt agt gga tta cgt gcc ggt ctg ttc cat cct acc	937		
Arg Pro Leu Ala Cys Ser Gly Leu Arg Ala Gly Leu Phe His Pro Thr			
255	260	265	270
acc ggc tat tca ctg ccg ctg gcg gtt gcc gtg gcc gac cgc ctg agt	985		
Thr Gly Tyr Ser Leu Pro Leu Ala Val Ala Val Ala Asp Arg Leu Ser			
275	280	285	

gca ctt gat gtc ttt acg tcg gcc tca att cac cat gcc att acg cat		1033	
Ala Leu Asp Val Phe Thr Ser Ala Ser Ile His His Ala Ile Thr His			
290	295	300	
ttt gcc cgc gag cgc tgg cag cag cag ggc ttt ttc cgc atg ctg aat		1081	
Phe Ala Arg Glu Arg Trp Gln Gln Gly Phe Phe Arg Met Leu Asn			
305	310	315	
cgc atg ctg ttt tta gcc gga ccc gcc gat tca cgc tgg cgg gtt atg		1129	
Arg Met Leu Phe Leu Ala Gly Pro Ala Asp Ser Arg Trp Arg Val Met			
320	325	330	
cag cgt ttt tat ggt tta cct gaa gat tta att gcc cgt ttt tat gcg		1177	
Gln Arg Phe Tyr Gly Leu Pro Glu Asp Leu Ile Ala Arg Phe Tyr Ala			
335	340	345	350
gga aaa ctc acg ctg acc gat cgg cta cgt att ctg agc ggc aag ccg		1225	
Gly Lys Leu Thr Leu Thr Asp Arg Leu Arg Ile Leu Ser Gly Lys Pro			
355	360	365	
cct gtt ccg gta tta gca gca ttg caa gcc att atg acg act		1267	
Pro Val Pro Val Leu Ala Ala Leu Gln Ala Ile Met Thr Thr			
370	375	380	
catcgtaaaa gagcgactac atgaaaaccaa ctacggtaat tggtgccaggc ttccggggcc		1327	
tggcaactggc aattcgtcta caagctgcgg ggatccccgt cttactgctt gaacaacgtg		1387	
ataaaacccgg cggtcgggct tatgtctacg aggatcaggg gtttaccttt gatgcaggcc		1447	
cgacggttat caccgatccc agtgccattt aagaactgtt tgcaactggca ggaaaacagt		1507	
taaaaagagta tgtcgaactg ctgccggta cgccgttta ccgcctgtgt tgggagtcag		1567	
ggaaggtctt taattacat aacgatcaaa cccggctcga agccagatt cagcagttta		1627	
atccccgcga tgtcgaaggt tatcgtcagt ttctggacta ttcacgcgcg gtgtttaaag		1687	
aaggctatct aaagctcggt actgtccctt ttttatcggtt cagagacatg cttcgccgcg		1747	
cacctcaact ggcgaaactg caggcatgga gaagcgttta cagtaagggtt gccagttaca		1807	
tcgaagatga acatctgcgc caggcgaaaa ctttccactc gctgttggtg ggccggcaatc		1867	
ccttcgcccac ctcatccatt tatacggtt tacacgcgcgt ggagcgttag tggggcgtct		1927	
ggtttccgcg tggcgccacc ggccgcattag ttccaggat gataaagctg ttccaggatc		1987	
tgggtggcga agtcgtgtt aacgccagag tcagccatat ggaaacgaca ggaaacaaga		2047	
ttgaagccgt gcatttagag gacggtcgca ggttcctgac gcaagccgtc gcgtcaaatg		2107	

cagatgtggt tcatacctat cgcgacctgt taagccagca ccctgcccgcg gttaaggcagt 2167
ccaacaaaact gcagactaag cgcatgagta actctctgtt tgtgctctat tttggtttga 2227
atcaccatca tgatcagctc ggcacatcaca cggtttgtt cggcccgctt taccgcgagc 2287
tgattgacga aatttttaat catgatggcc tcgcagagga cttctcactt tatctgcacg 2347
cgccctgtgt cacggattcg tcactggcgc ctgaagggtt cggcagttac tatgtgttgg 2407
cgccggtgcc gcatttaggc accgcgaacc tcgactggac ggttgagggg ccaaaactac 2467
gcgaccgtat ttttcgtac cttgagcagc attacatgcc tggcttacgg agtcagctgg 2527
tcacgcaccc gatgtttacg ccgtttgatt ttgcgcacca gcttaatgcc tatcatggct 2587
cagccttttc tgtggagccc gttcttaccc agagcgccctg gtttcggccg cataaccgcg 2647
ataaaaaccat tactaatctc tacctggctg ggcgcaggcac gcatccggc gcaggcattc 2707
ctggcgtcat cggctcgca aaagcgacag caggtttgat gctggaggat ctgatttcaa 2767
taatccgtcg ttactcaatc atgcggtcga aacgatggca gttggctcga aaagttttgc 2827
gacagcctca aagttatttgc atgaaaaaac ccggcgcagc gtactgatgc tctacgcctg 2887
gtgccgcctat tgtgacgatg ttattgacga tcagacgctg ggcttcagg cccggcagcc 2947
tgccttacaa acgccccaaac aacgtctgat gcaacttgag atgaaaacgc gccaggccta 3007
tgcaggatcg cagatgcacg aaccggcggt tgccggcttt caggaagtgg ctatggctca 3067
tgatatcgcc ccggcttacg cgtttgcata tctggaaaggc ttgcgcattgg atgtacgcga 3127
agcgcaatac agccaaactgg atgatacgct ggcgtattgc tatcacgttg caggcgttgt 3187
cggtttgatg atggcgcaaa tcatggcggt gcgggataac gccacgctgg accgcgcctg 3247
tgaccttggg ctggcatttc agttgaccaa tattgctcgc gatattgtgg acgatgcga 3307
tgccggccgc tgttatctgc cggcaagctg gctggagcat gaaggtctga acaaagagaa 3367
ttatgcggca cctgaaaacc gtcaggcgct gagccgtatc gcccgtcggt tggtgcagga 3427
agcagaacct tactatttgc ctgccacagc cggcctggca gggttgcccc tgcgtttccgc 3487
ctgggcaatc gctacggcgaa agcaggttta ccggaaaata ggtgtcaaag ttgaacaggc 3547
cggtcagcaa gcctgggatc agcggcagtc aacgaccacg cccgaaaaat taacgctgct 3607
gctggccgc tctggtcagg cccttacttc ccggatgcgg gctcatcctc cccgcctgc 3667

gcatctctgg cagcgccgc tctagcgcca tgtcttccc ggagcgtcgc ctgaagttt	3727
gacaggggcg gcgcatagag gaagccaaaa gaaacacaac cttcttgcc cctgacggcg	3787
tgatgcatac ggtgcgccat atacaaccgt ttgaggtgc ccttcgtgg aatatacgaa	3847
aatggccaac gttgatgcac cagccgtcg tgcaccataa aatagagtaa tccatacgcc	3907
gtcataacctg cgccaatcca ctggagcggc cacattctg tactgcccag ataaatcagc	3967
aggatcgata atgcagcaaa aaccacggca taaagatcgtaaacttcaaa cgcaccccaa	4027
cgcggttcat gatgtgaaag atgcacatccc caaccccagc cgtgcattgtatgttgc	4087
gccagtgcag caatcactt catgccaatc acggtaacga aaacgatcag ggcattccaa	4147
atccacaaca taatttctcc ggttagagacg tctggcagca ggcttaagga ttcaatttta	4207
acagagatta gccgatctgg cggcggaaag ggaaaaaggc gcgcagaaaa ggcgccag	4267
ggatcagaag tcggcttca gaaccacacg gtagttggct ttacctgcac gaacatggc	4327
cagtgcacatcg ttgatccatcg acatcgaaatcg gtactccact gtcggcgcaa tatctgtacg	4387
gccagccagc ttcagcgtg aacgcgtg cgcaggtaaa ccgggttgaag aacccgtc	4447
ggcgccgtcg cctaaaatca ggctgaaagc cgggcacgtc aaacggcttc agtacggcac	4507
ccacggatcg gaacttaccg cgaggcgcca gggccgaaaa gtagggttgc cagtcgagat	4567
cgacggcgac cgtgctgata atcaggtcaa actggccgc caggctttt aaagctt	4624

<210> 85

<211> 380

<212> PRT

<213> Erwinia uredovora

<220>

<221> misc_feature

<222> (1288)..(2766)

<223>

<220>

<221> misc_feature

<222> (2802)..(3689)

<223>

<220>

<221> misc_feature

<222> (3631)..(4158)

<223>

<400> 85

Met Gln Pro His Tyr Asp Leu Ile Leu Val Gly Ala Gly Leu Ala Asn
1 5 10 15

Gly Leu Ile Ala Leu Arg Leu Gln Gln Gln Pro Asp Met Arg Ile
20. 25 30

Leu Leu Ile Asp Ala Ala Pro Gln Ala Gly Gly Asn His Thr Trp Ser
35 40 45

Phe His His Asp Asp Leu Thr Glu Ser Gln His Arg Trp Ile Ala Pro
50 55 60

Leu Val Val His His Trp Pro Asp Tyr Gln Val Arg Phe Pro Thr Arg
65 70 75 80

Arg Arg Lys Leu Asn Ser Gly Tyr Phe Cys Ile Thr Ser Gln Arg Phe
85 90 95

Ala Glu Val Leu Gln Arg Gln Phe Gly Pro His Leu Trp Met Asp Thr
100 105 110

Ala Val Ala Glu Val Asn Ala Glu Ser Val Arg Leu Lys Lys Gly Gln
115 120 125

Val Ile Gly Ala Arg Ala Val Ile Asp Gly Arg Gly Tyr Ala Ala Asn
130 135 140

Ser Ala Leu Ser Val Gly Phe Gln Ala Phe Ile Gly Gln Glu Trp Arg
145 150 155 160

Leu Ser His Pro His Gly Leu Ser Ser Pro Ile Ile Met Asp Ala Thr
165 170 175

Val Asp Gln Gln Asn Gly Tyr Arg Phe Val Tyr Ser Leu Pro Leu Ser
180 185 190

Pro Thr Arg Leu Leu Ile Glu Asp Thr His Tyr Ile Asp Asn Ala Thr
195 200 205

Leu Asp Pro Glu Cys Ala Arg Gln Asn Ile Cys Asp Tyr Ala Ala Gln
210 215 220

Gln Gly Trp Gln Leu Gln Thr Leu Leu Arg Glu Glu Gln Gly Ala Leu
225 230 235 240

Pro Ile Thr Leu Ser Gly Asn Ala Asp Ala Phe Trp Gln Gln Arg Pro
245 250 255

Leu Ala Cys Ser Gly Leu Arg Ala Gly Leu Phe His Pro Thr Thr Gly
260 265 270

Tyr Ser Leu Pro Leu Ala Val Ala Val Ala Asp Arg Leu Ser Ala Leu
275 280 285

Asp Val Phe Thr Ser Ala Ser Ile His His Ala Ile Thr His Phe Ala
290 295 300

Arg Glu Arg Trp Gln Gln Gln Gly Phe Phe Arg Met Leu Asn Arg Met
305 310 315 320

Leu Phe Leu Ala Gly Pro Ala Asp Ser Arg Trp Arg Val Met Gln Arg
325 330 335

Phe Tyr Gly Leu Pro Glu Asp Leu Ile Ala Arg Phe Tyr Ala Gly Lys
340 345 350

Leu Thr Leu Thr Asp Arg Leu Arg Ile Leu Ser Gly Lys Pro Pro Val
355 360 365

Pro Val Leu Ala Ala Leu Gln Ala Ile Met Thr Thr
370 375 380

<210> 86

<211> 32

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<221> primer_bind

<222> (1)..(32)

<223>

<400> 86
tttttctcga gcgataaaacg ctcacttggt ta 32

<210> 87

<211> 32

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<221> primer_bind

<222> (1)..(32)

<223>

<400> 87
tttttgcga cacgttatgc tcacaacccc gg 32

<210> 88

<211> 679

<212> DNA

<213> Escherichia coli

<220>

<221> CDS

<222> (87) .. (635)

<223>

<400> 88
ctcgagcgat aaacgctcac ttggtaatc atttcactct tcaattatct ataatgatga 60

gtgatcagaa ttacatgtga gaaatt atg caa acg gaa cac gtc att tta ttg 113
Met Gln Thr Glu His Val Ile Leu Leu
1 5

aat gca cag gga gtt ccc acg ggt acg ctg gaa aag tat gcc gca cac 161
Asn Ala Gln Gly Val Pro Thr Gly Thr Leu Glu Lys Tyr Ala Ala His
10 15 20 25

acg gca gac acc cgc tta cat ctc gcg ttc tcc agt tgg ctg ttt aat 209
Thr Ala Asp Thr Arg Leu His Leu Ala Phe Ser Ser Trp Leu Phe Asn
30 35 40

gcc aaa gga caa tta tta gtt acc cgc cgc gca ctg agc aaa aaa gca 257
Ala Lys Gly Gln Leu Leu Val Thr Arg Arg Ala Leu Ser Lys Lys Ala
45 50 55

tgg cct ggc gtg tgg act aac tcg gtt tgt ggg cac cca caa ctg gga 305
Trp Pro Gly Val Trp Thr Asn Ser Val Cys Gly His Pro Gln Leu Gly
60 65 70

gaa agc aac gaa gac gca gtg atc cgc cgt tgc cgt tat gag ctt ggc 353
Glu Ser Asn Glu Asp Ala Val Ile Arg Arg Cys Arg Tyr Glu Leu Gly
75 80 85

gtg gaa att acg cct cct gaa tct atc tat cct gac ttt cgc tac cgc 401
Val Glu Ile Thr Pro Pro Glu Ser Ile Tyr Pro Asp Phe Arg Tyr Arg
90 95 100 105

gcc acc gat ccg agt ggc att gtg gaa aat gaa gtg tgt ccg gta ttt 449
Ala Thr Asp Pro Ser Gly Ile Val Glu Asn Glu Val Cys Pro Val Phe
110 115 120

gcc gca cgc acc act agt gcg tta cag atc aat gat gat gaa gtg atg 497
Ala Ala Arg Thr Thr Ser Ala Leu Gln Ile Asn Asp Asp Glu Val Met
125 130 135

gat tat caa tgg tgt gat tta gca gat gta tta cac ggt att gat gcc 545
Asp Tyr Gln Trp Cys Asp Leu Ala Asp Val Leu His Gly Ile Asp Ala
140 145 150

acg ccg tgg gcg ttc agt ccg tgg atg gtg atg cag gcg aca aat cgc 593
Thr Pro Trp Ala Phe Ser Pro Trp Met Val Met Gln Ala Thr Asn Arg
155 160 165

gaa gcc aga aaa cga tta tct gca ttt acc cag ctt aaa taa 635
Glu Ala Arg Lys Arg Leu Ser Ala Phe Thr Gln Leu Lys
170 175 180

aaaaaccccg acatttgcgc ggggttgtgag cataacgtgt cgac 679

<210> 89

<211> 182

<212> PRT

<213> Escherichia coli

<400> 89

Met Gln Thr Glu His Val Ile Leu Leu Asn Ala Gln Gly Val Pro Thr
1 5 10 15

Gly Thr Leu Glu Lys Tyr Ala Ala His Thr Ala Asp Thr Arg Leu His
20 25 30

Leu Ala Phe Ser Ser Trp Leu Phe Asn Ala Lys Gly Gln Leu Leu Val
35 40 45

178

Thr Arg Arg Ala Leu Ser Lys Lys Ala Trp Pro Gly Val Trp Thr Asn
50 55 60

Ser Val Cys Gly His Pro Gln Leu Gly Glu Ser Asn Glu Asp Ala Val
65 70 75 80

Ile Arg Arg Cys Arg Tyr Glu Leu Gly Val Glu Ile Thr Pro Pro Glu
85 90 95

Ser Ile Tyr Pro Asp Phe Arg Tyr Arg Ala Thr Asp Pro Ser Gly Ile
100 105 110

Val Glu Asn Glu Val Cys Pro Val Phe Ala Ala Arg Thr Thr Ser Ala
115 120 125

Leu Gln Ile Asn Asp Asp Glu Val Met Asp Tyr Gln Trp Cys Asp Leu
130 135 140

Ala Asp Val Leu His Gly Ile Asp Ala Thr Pro Trp Ala Phe Ser Pro
145 150 155 160

Trp Met Val Met Gln Ala Thr Asn Arg Glu Ala Arg Lys Arg Leu Ser
165 170 175

Ala Phe Thr Gln Leu Lys
180

<210> 90

<211> 31

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<221> primer_bind

<222> (1)...(31)

<223>

<400> 90
ttttccatg gtgaaggagg aaatagcgaa a 31

<210> 91

<211> 32

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<221> primer_bind

<222> (1)..(32)

<223>

<400> 91
tttttaagct ttcactttt tcttgtaacc aa 32

<210> 92

<211> 962

<212> DNA

<213> Archaeoglobus fulgidus

<220>

<221> CDS

<222> (3)..(956)

<223>

180

<400>	92		
cc atg gtg aag gag gaa ata gcg aaa agg gcc gaa ata atc aac aaa			47
Met Val Lys Glu Glu Ile Ala Lys Arg Ala Glu Ile Ile Asn Lys			
1	5	10	15
gcc att gaa gag ctt ctg ccc gaa agg gag ccg att gga ctc tac aaa			95
Ala Ile Glu Glu Leu Leu Pro Glu Arg Glu Pro Ile Gly Leu Tyr Lys			
20	25	30	
gcc gca agg cat ctg atc aaa gca ggt ggc aag agg cta agg cct gta			143
Ala Ala Arg His Leu Ile Lys Ala Gly Gly Lys Arg Leu Arg Pro Val			
35	40	45	
ata agc ctc tta gca gtc gaa gcc ctt ggg aaa gac tac aga aag att			191
Ile Ser Leu Leu Ala Val Glu Ala Leu Gly Lys Asp Tyr Arg Lys Ile			
50	55	60	
atc ccg gct gtc agc att gaa aca atc cac aac ttc acc ctc gtg			239
Ile Pro Ala Ala Val Ser Ile Glu Thr Ile His Asn Phe Thr Leu Val			
65	70	75	
cat gac gac ata atg gac agg gac gag atg agg agg gga gtt ccg acg			287
His Asp Asp Ile Met Asp Arg Asp Glu Met Arg Arg Gly Val Pro Thr			
80	85	90	95
gta cac agg gtt tat ggg gaa gcg acg gcc att tta gca ggc gac aca			335
Val His Arg Val Tyr Gly Glu Ala Thr Ala Ile Leu Ala Gly Asp Thr			
100	105	110	
ctc ttt gct gaa gcc ttc aag ctg ctg aca aag tgc gat gtt gag agc			383
Leu Phe Ala Glu Ala Phe Lys Leu Leu Thr Lys Cys Asp Val Glu Ser			
115	120	125	
gag gga atc aga aaa gct aca gaa atg ctt tcg gac gtt tgc ata aaa			431
Glu Gly Ile Arg Lys Ala Thr Glu Met Leu Ser Asp Val Cys Ile Lys			
130	135	140	
ata tgc gag ggg cag tac tac gac atg agc ttt gag aaa aag gag agc			479
Ile Cys Glu Gly Gln Tyr Tyr Asp Met Ser Phe Glu Lys Lys Glu Ser			
145	150	155	
gtt tcc gag gag gag tat ctc agg atg gtc gag ctg aag acc gga gtg			527
Val Ser Glu Glu Glu Tyr Leu Arg Met Val Glu Leu Lys Thr Gly Val			
160	165	170	175
ctg att gca gct tct gca gca tta cct gcg gtg ctt ttt ggg gag agc			575
Leu Ile Ala Ala Ser Ala Ala Leu Pro Ala Val Leu Phe Gly Glu Ser			
180	185	190	
gag gaa att gta aag gcg ctg tgg gac tac gga gtt ctt agc ggt att			623
Glu Glu Ile Val Lys Ala Leu Trp Asp Tyr Gly Val Leu Ser Gly Ile			
195	200	205	

ggc ttc cag atc cag gac gac ctg ctt gac ctg act gag gag acc gga	671
Gly Phe Gln Ile Gln Asp Asp Leu Leu Asp Leu Thr Glu Glu Thr Gly	
210	215
220	
aag gac tgg gga agc gac ctg ctt aaa ggg aag aaa acc ctg att gtc	719
Lys Asp Trp Gly Ser Asp Leu Leu Lys Gly Lys Lys Thr Leu Ile Val	
225	230
235	
ata aag gcg ttc gaa aag gga gtg aag cta aag acg ttt gga aag gaa	767
Ile Lys Ala Phe Glu Lys Gly Val Lys Leu Lys Thr Phe Gly Lys Glu	
240	245
255	
aag gcg gac gtc tct gag att aga gat gat atc gaa aag tta aga gag	815
Lys Ala Asp Val Ser Glu Ile Arg Asp Asp Ile Glu Lys Leu Arg Glu	
260	265
270	
tgt ggt gcg att gat tac gct gcc agc atg gca aga aag atg gct gaa	863
Cys Gly Ala Ile Asp Tyr Ala Ala Ser Met Ala Arg Lys Met Ala Glu	
275	280
285	
gag gcg aaa aga aag ctc gaa gtt ctg cct gaa agc aaa gcc aag gaa	911
Glu Ala Lys Arg Lys Leu Glu Val Leu Pro Glu Ser Lys Ala Lys Glu	
290	295
300	
aca ctg ctg gaa ctt acc gac ttc ttg gtt aca aga aaa aag tga	956
Thr Leu Leu Glu Leu Thr Asp Phe Leu Val Thr Arg Lys Lys	
305	310
315	
aagctt	962

<210> 93

<211> 317

<212> PRT

<213> Archaeoglobus fulgidus

<400> 93

Met Val Lys Glu Glu Ile Ala Lys Arg Ala Glu Ile Ile Asn Lys Ala	
1	5
10	15

Ile Glu Glu Leu Leu Pro Glu Arg Glu Pro Ile Gly Leu Tyr Lys Ala	
20	25
30	

182

Ala Arg His Leu Ile Lys Ala Gly Gly Lys Arg Leu Arg Pro Val Ile
35 40 45

Ser Leu Leu Ala Val Glu Ala Leu Gly Lys Asp Tyr Arg Lys Ile Ile
50 55 60

Pro Ala Ala Val Ser Ile Glu Thr Ile His Asn Phe Thr Leu Val His
65 70 75 80

Asp Asp Ile Met Asp Arg Asp Glu Met Arg Arg Gly Val Pro Thr Val
85 90 95

His Arg Val Tyr Gly Glu Ala Thr Ala Ile Leu Ala Gly Asp Thr Leu
100 105 110

Phe Ala Glu Ala Phe Lys Leu Leu Thr Lys Cys Asp Val Glu Ser Glu
115 120 125

Gly Ile Arg Lys Ala Thr Glu Met Leu Ser Asp Val Cys Ile Lys Ile
130 135 140

Cys Glu Gly Gln Tyr Tyr Asp Met Ser Phe Glu Lys Lys Glu Ser Val
145 150 155 160

Ser Glu Glu Glu Tyr Leu Arg Met Val Glu Leu Lys Thr Gly Val Leu
165 170 175

Ile Ala Ala Ser Ala Ala Leu Pro Ala Val Leu Phe Gly Glu Ser Glu
180 185 190

Glu Ile Val Lys Ala Leu Trp Asp Tyr Gly Val Leu Ser Gly Ile Gly
195 200 205

Phe Gln Ile Gln Asp Asp Leu Leu Asp Leu Thr Glu Glu Thr Gly Lys
210 215 220

Asp Trp Gly Ser Asp Leu Leu Lys Gly Lys Lys Thr Leu Ile Val Ile
225 230 235 240

183

Lys Ala Phe Glu Lys Gly Val Lys Leu Lys Thr Phe Gly Lys Glu Lys
245 250 255

Ala Asp Val Ser Glu Ile Arg Asp Asp Ile Glu Lys Leu Arg Glu Cys
260 265 270

Gly Ala Ile Asp Tyr Ala Ala Ser Met Ala Arg Lys Met Ala Glu Glu
275 280 285

Ala Lys Arg Lys Leu Glu Val Leu Pro Glu Ser Lys Ala Lys Glu Thr
290 295 300

Leu Leu Glu Leu Thr Asp Phe Leu Val Thr Arg Lys Lys
305 310 315

<210> 94

<211> 1293

<212> DNA

<213> Archaeoglobus fulgidus

<220>

<221> CDS

<222> (206)..(1159)

<223>

<400> 94
taaaaacgacg gccagtgagc gcgcgtataa cgaactcacta tagggcgaat tgggtaccgg 60
gccccccctc gacgcccgtcg ttcaatgaga atggataaga ggctcgtggg attgacgtga 120
gggggcaggg atggctatat ttctgggagc gaactccggg cgaggatcta gttgttaggga 180
gggattcatg acaccacaaa cagcc atg gtg aag gag gaa ata gcg aaa agg 232
Met Val Lys Glu Glu Ile Ala Lys Arg
1 5
gcc gaa ata atc aac aaa gcc att gaa gag ctt ctg ccc gaa agg gag 280

184

Ala Glu Ile Ile Asn Lys Ala Ile Glu Glu Leu Leu Pro Glu Arg Glu			
10	15	20	25
ccg att gga ctc tac aaa gcc gca agg cat ctg atc aaa gca ggt ggc			328
Pro Ile Gly Leu Tyr Lys Ala Ala Arg His Leu Ile Lys Ala Gly Gly			
30	35	40	
aag agg cta agg cct gta ata agc ctc tta gca gtc gaa gcc ctt ggg			376
Lys Arg Leu Arg Pro Val Ile Ser Leu Leu Ala Val Glu Ala Leu Gly			
45	50	55	
aaa gac tac aga aag att atc ccg gct gtc agc att gaa aca atc			424
Lys Asp Tyr Arg Lys Ile Ile Pro Ala Ala Val Ser Ile Glu Thr Ile			
60	65	70	
cac aac ttc acc ctc gtg cat gac gac ata atg gac agg gag atg			472
His Asn Phe Thr Leu Val His Asp Asp Ile Met Asp Arg Asp Glu Met			
75	80	85	
agg agg gga gtt ccg acg gta cac agg gtt tat ggg gaa gca acg gcc			520
Arg Arg Gly Val Pro Thr Val His Arg Val Tyr Gly Glu Ala Thr Ala			
90	95	100	105
att tta gca ggc gac aca ctc ttt gct gaa gcc ttc aag ctg ctg aca			568
Ile Leu Ala Gly Asp Thr Leu Phe Ala Glu Ala Phe Lys Leu Leu Thr			
110	115	120	
aag tgc gat gtt gag agc gag gga atc aga aaa gct aca gaa atg ctt			616
Lys Cys Asp Val Glu Ser Glu Gly Ile Arg Lys Ala Thr Glu Met Leu			
125	130	135	
tcg gac gtt tgc ata aaa ata tgc gag ggg cag tac tac gac atg agc			664
Ser Asp Val Cys Ile Lys Ile Cys Glu Gly Gln Tyr Tyr Asp Met Ser			
140	145	150	
ttt gag aaa aag gag agc gtt tcc gag gag gag tat ctc agg atg gtc			712
Phe Glu Lys Lys Glu Ser Val Ser Glu Glu Glu Tyr Leu Arg Met Val			
155	160	165	
gag ctg aag acc gga gtg ctg att gca gct tct gca gca tta cct gcg			760
Glu Leu Lys Thr Gly Val Leu Ile Ala Ala Ser Ala Ala Leu Pro Ala			
170	175	180	185
gtg ctt ttt ggg gag agc gag gaa att gta aag gca ctg tgg gac tac			808
Val Leu Phe Gly Glu Ser Glu Glu Ile Val Lys Ala Leu Trp Asp Tyr			
190	195	200	
gga gtt ctt agc ggt att ggc ttc cag atc cag gac ctg ctt gac			856
Gly Val Leu Ser Gly Ile Gly Phe Gln Ile Gln Asp Asp Leu Leu Asp			
205	210	215	
ctg act gag gag acc gga aag gac tgg gga agc gac ctg ctt aaa ggg			904

185

Leu Thr Glu Glu Thr Gly Lys Asp Trp Gly Ser Asp Leu Leu Lys Gly			
220	225	230	
aag aaa acc ctg att gtc ata aag gcg ttc gaa aag gga gtg aag cta			952
Lys Lys Thr Leu Ile Val Ile Lys Ala Phe Glu Lys Gly Val Lys Leu			
235	240	245	
aag acg ttt gga aag gaa aag gcg gac gtc tct gag att aga gat gat			1000
Lys Thr Phe Gly Lys Glu Lys Ala Asp Val Ser Glu Ile Arg Asp Asp			
250	255	260	265
atc gaa aag tta aga gag tgt ggt gcg att gat tac gct gcc agc atg			1048
Ile Glu Lys Leu Arg Glu Cys Gly Ala Ile Asp Tyr Ala Ala Ser Met			
270	275	280	
gca aga aag atg gct gaa gag gcg aaa aga aag ctc gaa gtt ctg cct			1096
Ala Arg Lys Met Ala Glu Glu Ala Lys Arg Lys Leu Glu Val Leu Pro			
285	290	295	
gaa agc aaa gcc aag gaa aca ctg ctg gaa ctt acc gac ttc ttg gtt			1144
Glu Ser Lys Ala Lys Glu Thr Leu Leu Glu Leu Thr Asp Phe Leu Val			
300	305	310	
aca aga aaa aag tga aagcttcaat tgcatgctct agatgatcaa agaattcctg			1199
Thr Arg Lys Lys			
315			
gcctagtcta taggaggttt tgaaaagaaa ggagcaataa tcattttctt gttctatcaa			1259
gagggtgcta ttgctccccc cttttttctt cgag			1293

<210> 95

<211> 317

<212> PRT

<213> Archaeoglobus fulgidus

<400> 95

Met Val Lys Glu Glu Ile Ala Lys Arg Ala Glu Ile Ile Asn Lys Ala			
1	5	10	15

Ile Glu Glu Leu Leu Pro Glu Arg Glu Pro Ile Gly Leu Tyr Lys Ala			
20	25	30	

186

Ala Arg His Leu Ile Lys Ala Gly Gly Lys Arg Leu Arg Pro Val Ile
35 40 45

Ser Leu Leu Ala Val Glu Ala Leu Gly Lys Asp Tyr Arg Lys Ile Ile
50 55 60

Pro Ala Ala Val Ser Ile Glu Thr Ile His Asn Phe Thr Leu Val His
65 70 75 80

Asp Asp Ile Met Asp Arg Asp Glu Met Arg Arg Gly Val Pro Thr Val
85 90 95

His Arg Val Tyr Gly Glu Ala Thr Ala Ile Leu Ala Gly Asp Thr Leu
100 105 110

Phe Ala Glu Ala Phe Lys Leu Leu Thr Lys Cys Asp Val Glu Ser Glu
115 120 125

Gly Ile Arg Lys Ala Thr Glu Met Leu Ser Asp Val Cys Ile Lys Ile
130 135 140

Cys Glu Gly Gln Tyr Tyr Asp Met Ser Phe Glu Lys Lys Glu Ser Val
145 150 155 160

Ser Glu Glu Glu Tyr Leu Arg Met Val Glu Leu Lys Thr Gly Val Leu
165 170 175

Ile Ala Ala Ser Ala Ala Leu Pro Ala Val Leu Phe Gly Glu Ser Glu
180 185 190

Glu Ile Val Lys Ala Leu Trp Asp Tyr Gly Val Leu Ser Gly Ile Gly
195 200 205

Phe Gln Ile Gln Asp Asp Leu Leu Asp Leu Thr Glu Glu Thr Gly Lys
210 215 220

Asp Trp Gly Ser Asp Leu Leu Lys Gly Lys Lys Thr Leu Ile Val Ile
225 230 235 240

187

Lys Ala Phe Glu Lys Gly Val Lys Leu Lys Thr Phe Gly Lys Glu Lys
245 250 255

Ala Asp Val Ser Glu Ile Arg Asp Asp Ile Glu Lys Leu Arg Glu Cys
260 265 270

Gly Ala Ile Asp Tyr Ala Ala Ser Met Ala Arg Lys Met Ala Glu Glu
275 280 285

Ala Lys Arg Lys Leu Glu Val Leu Pro Glu Ser Lys Ala Lys Glu Thr
290 295 300

Leu Leu Glu Leu Thr Asp Phe Leu Val Thr Arg Lys Lys
305 310 315

<210> 96

<211> 35

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<221> primer_bind

<222> (1)..(35)

<223>

<400> 96

gagctttca ttatttcgat tttgatttcg tgacc

35

<210> 97

<211> 38

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<221> Primer

<222> (1) .. (38)

<223>

<400> 97

aagcttggtt gatcagaaga agaagaagaa gatgaact

38

<210> 98

<211> 647

<212> DNA

<213> *Arabidopsis thaliana*

<220>

<221> Promotor

<222> (1) .. (647)

<223>

<400> 98

gagctcttca ttatttcgat tttgatttcg tgaccagcga acgcagaata ccttgttg 60

taataacttta cccgtgtaaa tcaaaaacaa aaaggcttt gagcttttg tagttgaatt 120

tctctggctg atctttctg tacagattca tatatctgca gagacgatat cattgattat 180

ttgagcttct tttgaactat ttctgttaat ttgggatgag agctctatgt atgtgtgtaa 240

actttgaaga caacaagaaa ggtaacaagt gagggagggaa tgactccatg tcaaaataga 300

tgtcataaga ggcccatcaa taagtgttg agcccattag cttagccagt aactaccaga 360

tttgtgatg gatgtgtgaa cagtttttt tttgtatgtag gactgaaatg tgaacaacag 420

gcgcatgaaa ggctaaatta ggacaatgat aagcagaaat aacttatacct ctctaacact 480

tggcctcaca ttgcccttca cacaatccac acacatccaa tcacaacctc atcatatatac 540
tccccgcta at cttttttctt ttgatctttt ttttttgct tattatttttt ttgactttga 600
tctcccatca gttcatcttc ttcttcttct tctgatcaac caagctt 647

<210> 99

<211> 28

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<221> primer_bind

<222> (1) .. (28)

<223>

<400> 99
gagctcaactc actgatttcc attgcttg 28

<210> 100

<211> 37

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<221> Primer

<222> (1) .. (37)

<223>

<400> 100
gcgcatgcat ctagaaatga tccagttaga acaaccca

37

<210> 101

<211> 37

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<221> Primer

<222> (1)..(37)

<223>

<400> 101
gcgcatgctc tagactatatt tgctttgtaa atttctg

37

<210> 102

<211> 792

<212> DNA

<213> Nostoc punctiforme ATCC 29133

<220>

<221> CDS

<222> (5)..(775)

<223>

<400> 102
gcgc atg cat cta gaa atg atc cag tta gaa caa cca ctc agt cat caa
Met His Leu Glu Met Ile Gln Leu Glu Gln Pro Leu Ser His Gln
1 5 10 15

49

gca aaa ctg act cca gta ctg aga agt aaa tct cag ttt aag ggg ctt Ala Lys Leu Thr Pro Val Leu Arg Ser Lys Ser Gln Phe Lys Gly Leu	97
20 25 30	
 ttc att gct att gtc att gtt agc gca tgg gtc att agc ctg agt tta Phe Ile Ala Ile Val Ile Val Ser Ala Trp Val Ile Ser Leu Ser Leu	145
35 40 45	
 tta ctt tcc ctt gac atc tca aag cta aaa ttt tgg atg tta ttg cct Leu Leu Ser Leu Asp Ile Ser Lys Leu Lys Phe Trp Met Leu Leu Pro	193
50 55 60	
 gtt ata cta tgg caa aca ttt tta tat acg gga tta ttt att aca tct Val Ile Leu Trp Gln Thr Phe Leu Tyr Thr Gly Leu Phe Ile Thr Ser	241
65 70 75	
 cat gat gcc atg cat ggc gta gta ttt ccc caa aac acc aag att aat His Asp Ala Met His Gly Val Val Phe Pro Gln Asn Thr Lys Ile Asn	289
80 85 90 95	
 cat ttg att gga aca ttg acc cta tcc ctt tat ggt ctt tta cca tat His Leu Ile Gly Thr Leu Thr Leu Ser Leu Tyr Gly Leu Leu Pro Tyr	337
100 105 110	
 caa aaa cta ttg aaa aaa cat tgg tta cac cac cac aat cca gca agc Gln Lys Leu Leu Lys His Trp Leu His His Asn Pro Ala Ser	385
115 120 125	
 tca ata gac ccg gat ttt cac aat ggt aaa cac caa agt ttc ttt gct Ser Ile Asp Pro Asp Phe His Asn Gly Lys His Gln Ser Phe Phe Ala	433
130 135 140	
 tgg tat ttt cat ttt atg aaa ggt tac tgg agt tgg ggg caa ata att Trp Tyr Phe His Phe Met Lys Gly Tyr Trp Ser Trp Gly Gln Ile Ile	481
145 150 155	
 gcg ttg act att att tat aac ttt gct aaa tac ata ctc cat atc cca Ala Leu Thr Ile Ile Tyr Asn Phe Ala Lys Tyr Ile Leu His Ile Pro	529
160 165 170 175	
 agt gat aat cta act tac ttt tgg gtg cta ccc tcg ctt tta agt tca Ser Asp Asn Leu Thr Tyr Phe Trp Val Leu Pro Ser Leu Leu Ser Ser	577
180 185 190	
 tta caa tta ttc tat ttt ggt act ttt tta ccc cat agt gaa cca ata Leu Gln Leu Phe Tyr Phe Gly Thr Phe Leu Pro His Ser Glu Pro Ile	625
195 200 205	
 ggg ggt tat gtt cag cct cat tgt gcc caa aca att agc cgt cct att Gly Gly Tyr Val Gln Pro His Cys Ala Gln Thr Ile Ser Arg Pro Ile	673
210 215 220	

tgg tgg tca ttt atc acg tgc tat cat ttt ggc tac cac gag gaa cat 721
Trp Trp Ser Phe Ile Thr Cys Tyr His Phe Gly Tyr His Glu Glu His
225 230 235

cac gaa tat cct cat att tct tgg tgg cag tta cca gaa att tac aaa
 His Glu Tyr Pro His Ile Ser Trp Trp Gln Leu Pro Glu Ile Tyr Lys
 240 245 250 255

gca aaa tagtcttagag catgcgc 792
Ala Lys

<210> 103

<211> 257

<212> PRT

<213> Nostoc punctiforme ATCC 29133

<400> 103

Met His Leu Glu Met Ile Gln Leu Glu Gln Pro Leu Ser His Gln Ala
1 5 10 15

Lys Leu Thr Pro Val Leu Arg Ser Lys Ser Gln Phe Lys Gly Leu Phe
20 25 30

Ile Ala Ile Val Ile Val Ser Ala Trp Val Ile Ser Leu Ser Leu Leu
35 40 45

Leu Ser Leu Asp Ile Ser Lys Leu Lys Phe Trp Met Leu Leu Pro Val
50 55 60

Ile Leu Trp Gln Thr Phe Leu Tyr Thr Gly Leu Phe Ile Thr Ser His
65 70 75 80

Asp Ala Met His Gly Val Val Phe Pro Gln Asn Thr Lys Ile Asn His
85 90 95

Leu Ile Gly Thr Leu Thr Leu Ser Leu Tyr Gly Leu Leu Pro Tyr Gln
100 105 110

Lys Leu Leu Lys Lys His Trp Leu His His His Asn Pro Ala Ser Ser
115 120 125

Ile Asp Pro Asp Phe His Asn Gly Lys His Gln Ser Phe Phe Ala Trp
130 135 140

Tyr Phe His Phe Met Lys Gly Tyr Trp Ser Trp Gly Gln Ile Ile Ala
145 150 155 160

Leu Thr Ile Ile Tyr Asn Phe Ala Lys Tyr Ile Leu His Ile Pro Ser
165 170 175

Asp Asn Leu Thr Tyr Phe Trp Val Leu Pro Ser Leu Leu Ser Ser Leu
180 185 190

Gln Leu Phe Tyr Phe Gly Thr Phe Leu Pro His Ser Glu Pro Ile Gly
195 200 205

Gly Tyr Val Gln Pro His Cys Ala Gln Thr Ile Ser Arg Pro Ile Trp
210 215 220

Trp Ser Phe Ile Thr Cys Tyr His Phe Gly Tyr His Glu Glu His His
225 230 235 240

Glu Tyr Pro His Ile Ser Trp Trp Gln Leu Pro Glu Ile Tyr Lys Ala
245 250 255

Lys

<210> 104

<211> 26

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<221> Primer

<222> (1) .. (26)

<223>

<400> 104

gtcgaccctg ctttaatgag atatgc

26

<210> 105

<211> 27

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<221> Primer

<222> (1) .. (27)

<223>

<400> 105

ctcgagcttg gacaatcagt aaattga

27

<210> 106

<211> 210

<212> DNA

<213> Agrobacterium tumefaciens

<220>

<221> Terminator

<222> (1)..(210)

<223>

<400> 106

gtcgaccctg cttaatgag atatgcgaga cgccatgtat cgcatgatat ttgctttcaa 60

ttctgttgtg cacgttgtaa aaaacctgag catgtgttagc tcagatcctt accgcccgtt 120

tcggttcatt ctaatgaata tatcacccgt tactatcgta ttttatgaa taatattctc 180

cgttcaattt actgattgtc caagctcgag 210

<210> 107

<211> 37

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<221> Primer

<222> (1)..(37)

<223>

<400> 107

cccgaaaaatt cttcattttt tcgattttga tttcggtg 37

<210> 108

<211> 38

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<221> Primer

<222> (1)..(38)

<223>

<400> 108

aagcttggtt gatcagaaga agaagaagaa gatgaact

38

<210> 109

<211> 652

<212> DNA

<213> Arabidopsis thaliana

<220>

<221> Promotor

<222> (1)..(652)

<223>

<400> 109

cccgaaaaatt cttcatttatt tcgattttga tttcgtgacc agcgaacgca gaataccttg 60

tttgtgtaata ctttacccgt gtaaatcaaa aacaaaaagg cttttgagct tttttagtt 120

gaatttctct ggctgatctt ttctgtacag attcatatat ctgcagagac gatatcattg 180

attatttgag cttctttga actattcgt gtaattggg atgagagctc tatgtatgt 240

tgtaaaactt gaagacaaca agaaaggtaa caagtgaggg agggatgact ccatgtcaaa 300

atagatgtca taagaggccc atcaataagt gcttgagccc attagctagc ccagtaacta 360

ccagattgtg agatggatgt gtgaacagtt ttttttttga tgtaggactg aaatgtgaac 420

aacaggcgca tgaaaggcta aattaggaca atgataagca gaaataactt atcctctcta 480

acacttggcc tcacattgcc cttcacacaa tccacacaca tccaatcaca acctcatcat 540

atatctcccg ctaatctttt tttctttgat cttttttttt ttgcttatta tttttttgac 600

tttgatctcc catcagttca tcttcttctt cttcttctga tcaaccaagc tt 652

<210> 110

<211> 29

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<221> Primer

<222> (1)...(29)

<223>

<400> 110

gagctcttagc gcaatcttat gtggcacaa

29

<210> 111

<211> 29

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<221> Primer

<222> (1)...(29)

<223>

<400> 111

aagcttttct tgaaaagtaaa gattgagtc

29

<210> 112
<211> 1773
<212> DNA
<213> Petunia hybrida

<220>
<221> Promotor
<222> (1)..(1773)
<223>

<400> 112
gagctctagc gcaatcttat gtggtacaaa tcttgattag tcgggaaaaa atgatgtggc 60
cctacaaatg gttggaggat gggagattt gctctatcta gagttatgtg gttgttgaag 120
catttggta ctctctgctg tggtagttgg catatccaca ttgtctcctt ccacttttat 180
gacaattacg tgaaagttat gggttgtttt gtctatTTTt gtcgaggcct ttctttcct 240
tccaggttgt tgaagatggc ccaattcgat tagaataatg ttttgagctt tagcatattc 300
tctctcgTTT acacgattat agtaataatg atataggatg acagaagttg acacataaaat 360
tttttattct ctccatttac tttaatccaa atctcaccta ccctaaactt cttaatatg 420
tattcaatag tctatccgag taaaattgtaa atttaacaac cattgataat attgacacct 480
actaacatat actagtaaag agaatattaa catggcacat ataatttgat gcaaaatgag 540
tatgatgaaa tttaaaccca aaatctttt gttttgacag tgtcacctt acttgttaac 600
taataagtca tgTTTTtagtg gcagaaaagac aaactcatcc accaactgta tagcaataaa 660
aaatagaaga atcttcctga ggcaaagttt tggaaaaatt aagagtggct gagatttaat 720
ttcaacagga attagttcca cttaactttt aggttacgat acagtgctaa ttAAATAACT 780
taattgtatt agatatttct tgcacctaaa aaattaaaa actgaaaaaaa ggttagcaatc 840
aaaataaaaca aaaggacaaa ataagtgaaa ggtacagcca ccaaccctgg cggctcactg 900
tttgggggtt aaaacgtaga ctacaccta ccaaaatcta caactaaaat gaggcaataa 960

tactttgccccc	aaaattacca	agaaaaagaaaa	aagaaaggaa	tcccttaata	ttactctcct	1020
ccatttcaca	ataaaatatcc	tagtttgact	taaatttagag	tttaaaaaat	gaaagacgac	1080
ttttaaaact	tgtaatctaa	aataaatcat	agttaaatgt	gtggctataa	atcattgtat	1140
taacggtaaaa	gtggtaagtt	taaaagttaa	ttgtttcaa	atataaaatt	gtactatcat	1200
tcttttgga	atggactaat	aagaaaacta	tgacatccat	tatggagcgg	agggagtttc	1260
tccttttaac	aataacctt	gtcccttcaa	ttcaattatc	agtatgc当地	cattaaaaat	1320
tattattgtat	gttaagtacc	acatcatcct	taatgataga	atcatcgtag	aacgctttc	1380
caggcacaca	ttcaaaactag	ttagaccagt	accacacatc	gaatattcca	gacttcttg	1440
tttgaatagt	cgactacattt	ggataatgga	acttctcgaa	ttaacttcga	attagtcgag	1500
ccccaaaataa	tatatacgtc	gggtggaaaa	ctataaaatg	tttgacaaaaa	atgtcaaatt	1560
aatatatcaa	tctgcaacaa	cctttcacc	ttgagaacac	agctgaaattt	ttttacaaag	1620
gtagttggtg	aagctagtca	gcgaatccca	ttaccttcca	ctctacctaa	cccccttcac	1680
caacaacaaa	tttctgtat	ttaaaaacta	gccaaaaaaaaa	aactctcttt	tacaaagagc	1740
caaagactca	atctttactt	tcaagaaaaag	ctt			1773

<210> 113

<211> 39

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<221> Primer

<222> (1)..(39)

<223>

<400> 113

gcgcatgcata ctagaaatga atttttgtga taaaccagt

<210> 114

<211> 37

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<221> Primer

<222> (1)..(37)

<223>

<400> 114

gcgcatgctc tagattacga attggttact gaattgt

37

<210> 115

<211> 819

<212> DNA

<213> Nostoc punctiforme ATCC 29133

<220>

<221> misc_feature

<222> (5)..(802)

<223>

<400> 115

gcgcatgcat ctagaaatga attttgtga taaaccagtt agctattatg ttgcaataga 60

gcaattaagt gctaaagaag atactgttg ggggctggtg attgtcatag taattattag 120

tctttggta gctagttgg ctttttact agctattaat tatgccaaag tcccaatttg 180

gttgataacct attgcaatag tttggcaaat gttccttat acaggctat ttattactgc 240
acatgatgct atgcatgggt cagtttatcg taaaaatccc aaaattaata attttatcgg 300
ttcactagct gtagcgctt acgctgtgtt tccatatcaa cagatgttaa agaatcattg 360
cttacatcat cgtcatcctg cttagcgaagt tgaccaggat tttcatgatg gtaagagaac 420
aaacgctatt ttctggtatac tccatttcat gatagaatac tccagttggc aacagttaat 480
agtactaact atcctattna atttagctaa atacgtttg cacatccatc aaataaatct 540
catcttattt tggagtattc ctccaatttt aagttccatt caactgtttt atttcggaac 600
atttttgcct catcgagaac ccaagaaagg atatgtttat ccccattgca gccaaacaat 660
aaaattgcca actttttgtt catttatcgc ttgctaccac tttggttatac atgaagaaca 720
tcatgagttat ccccatgtac cttggggca acttccatct gtatataagc agagagtatt 780
caacaattca gtaaccaatt cgtaatctag agcatgcgc 819

<210> 116

<211> 24

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<221> Primer

<222> (1)...(24)

<223>

<400> 116

gaattccctgc aatagaatgt tgag

24

<210> 117

<211> 25

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<221> Primer

<222> (1)..(25)

<223>

<400> 117

ctcgagctta cgagcatttt ctaag

25

<210> 118

<211> 307

<212> DNA

<213> Vicia faba

<220>

<221> Terminator

<222> (1)..(307)

<223>

<400> 118

gaattcctgc aatagaatgt tgaggtgacc actttctgta ataaaataat tataaaataaa 60

atttagaatt gctgttagtca agaacatcg ttctaaaata ttaataaaagt tatggccttt 120

tgacatatgt gtttcgataa aaaaatcaaa ataaattgag atttattcga aatacaatga 180

aagtttgcag atatgagata tgtttctaca aaataataac ttaaaaactca actatatgct 240

aatgttttgc gtttgtgttt tcataaaaaa ttgtatccgt ttcttagaaa atgctcgtaa 300

gctcgag 307

<210> 119

<211> 25

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<221> Primer

<222> (1)..(25)

<223>

<400> 119

gaattcccaa taataatcta cagcc

25

<210> 120

<211> 25

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<221> Primer

<222> (1)..(25)

<223>

<400> 120

aagcttccat ggccggccgga atttc

25

<210> 121

<211> 1020

<212> DNA

<213> Lycopersicon esculentum

<220>

<221> misc_feature

<222> (1)..(1020)

<223> Nukleinsäure codierend für ein b-Hydroxylase

<400> 121
aagcttccat ggcggccgga atttcagcct ccgcttagttc ccgaaccatt cgcctccgtc 60
ataacccgtt tctcagtcca aaatccgcct caaccgcccc gccggttctg ttcttccttc 120
cgtaactcg caattttggc gcaattttgc tgtctagaag aaagccgaga ttggcggttt 180
gttttgtct ggagaatgag aaattgaata gtactatcga aagttagatg gaagtaatag 240
aggatcgat acaagttagag attaatgagg agaagatgtt agctgccagt tggctggcgg 300
agaaattggc gaggaagaaa tcggagaggt ttacttatct tgtggcagct gtgatgtcta 360
gttggggat tacttctatg gcgattttgg cggttattt cagatttca tggcaaatgg 420
agggtggaga agtgcctttt tctgaaatgt tagctacatt cactctctcg tttggcgctg 480
ccgttaggaat ggagtactgg gcgagatggg ctcataagac actatggcat gtttctttat 540
ggcacatgca cgagtcgcac catagaccaa gagaaggacc ttttagatg aacgacgttt 600
tcgccataac aaatgctgtt ccagctatacg gtcttccttc ctacggtttc ttccataaaag 660
ggatcgccc tggcctctgt ttccggcgtg gattggggat cacagtattt gggatggctt 720
acatgttcgt tcacgatgga ctggttcata agagattcc cgtagggcct attgccaacg 780
tgcccttactt tcggagggtt gctgcagcac atcagcttca tcactcggac aaatttgatg 840
gtgtcccata tggcttggtt cttaggaccta aggaattgga agaagtagga ggacttgaag 900
agtttagaaaa ggaagtcaac cgaaggatta aaatttctaa gggatttata tgatcaaaag 960
atacgtctga taataataaa atgcgattgt atttaggctg tagatttata ttggaaattc 1020

<210> 122

<211> 24

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<221> Primer

<222> (1) .. (24)

<223>

<400> 122

gagctcttagc gcaatcttat gtgg

24

<210> 123

<211> 22

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<221> Primer

<222> (1) .. (22)

<223>

<400> 123

ccatggttct cacttctgtat tg

22

<210> 124

<211> 1802

<212> DNA

<213> Petunia hybrida

<220>

<221> Promotor

<222> (1)..(1802)

<223>

<400> 124

gagctctagc gcaatcttat gtggtacaaa tcttgattag tcggaaaaaa atgatgtggc	60
cctacaaaatg gttggaggat gggagattg gctctatcta gagttatgtg gttgttgaag	120
catttggta ctctctgctg tgtagttgg catatccaca ttgtctcctt ccacttttat	180
gacaattacg tgaaagttat gggttgtttt gtctatttt gtcgaggcct ttctttcct	240
tccaggttgt tgaagatggt ccaattcgat tagaataatg ttttgagctt tagcatattc	300
tctctcgttt acacgattat agtaataatg atataggatg acagaagttg acacataaat	360
tttttattct ctccatttac tttaatccaa atctcaccta ccctaaactt cttaatatg	420
tattcaatag tctatccgag taaattgtaa atttaacaac cattgataat attgacacct	480
actaacatatac actagttaaag agaatattaa catggcacat ataatttgat gaaaaatgag	540
tatgatgaaa tttaaaccctt aaatctcttg atttgacag tgcacccctt acttgttaac	600
taataagtca tgtttagtg gcagaaagac aaactcatcc accaactgta tagcaataaa	660
aaatagaaga atcttcctga ggcaaagttt tggaaaaatt aagagtggct gagatTTAT	720
ttcaacagga attagttcca cttaactttt aggtacgat acagtgcataa ttAAATAACT	780
taattgtatt agatatttct tgcacccctt aaattaaaa actgaaaaaaa ggttagcaatc	840
aaaataaaaca aaaggacaaa ataagtgaaa ggtacagcca ccaaccctgg cggctcactg	900
tttgggtt aaaacgtaga ctacaccta ccaaaatcta caactaaaat gaggcaataa	960
tactttgccccc aaaattacca agaaaagaaa aagaaaggaa tcccttaata ttacttcct	1020

ccatttcaca ataaatatcc tagtttact taaatttagag tttaaaaaat gaaagacgac 1080
ttttaaaact tgtaatctaa aataaatcat agttaaatgt gtggctataa atcattgtat 1140
taacggtaaa gtggtaagtt taaaagttaa ttgtttcaa atataaaatt gtactatcat 1200
tcttttgga atggactaat aagaaaacta tgacatccat tatggagcgg agggagtatc 1260
tcctttaac aataaccttt gtcccttcaa ttcaattatc agtatgcaaa cattaaaaat 1320
tattattgtat gttaagtacc acatcatcct taatgataga atcatcgtag aacgctttc 1380
caggcacaca ttcaaactag ttagaccagt accacacatc gaatattcca gacttcttg 1440
tttgaatagt cgactacatt ggataatgga acttctcgaa ttaacttcga attagtcgag 1500
ccccaaaataa tatatacgcc gggtgaaaaa ctataaaatg tttgacaaaa atgtcaaatt 1560
aatatatcaa tctgcaacaa cctttcacc ttgagaacac agctgaaatt ttttacaaag 1620
gtagttggtg aagctagtca gogaatccca ttaccttcca ctctacctaa cccccttcac 1680
caacaacaaa tttctgtat taaaaacta gccaaaaag aactctctt tacaaagagc 1740
caaagactca atctttactt tcaagaaaaag ctttgcaatt catacagaag tgagaaccat 1800
gg 1802

<210> 125

<211> 1033

<212> DNA

<213> *Arabidopsis thaliana*

<220>

<221> Promotor

<222> (1)..(1033)

<223> P76

<400> 125

agggtgcata ccaagtaaca atttgcattcc tttccagcat aacgtcatgt tggttgc当地 60

aagaaggcaa agtagagcaa gcaagcaagc aaagcatttt tcttatttta tattttgttg	120
cggattccac cacccacttg aaaaattgac atgtcacaat gatttcgtat cctagtctt	180
tattatttaa cactctcaca atcccattac tctacaccc tcattacaaag tcaacacacg	240
gttttcaaaa atccactacc ctcccaccac cttagaatctt ttgttaccta ccaacaccct	300
cctttgttct ctttatataat tggtccaact aaatcaataa gggaaagcat cctttgggt	360
ggaggaattg ctttcattct cactcttgc gtgttgcata atggactagc taataacaag	420
ttccctcctt atatatttca aaagaatgga acagaaacat aaacgaaaga cagagtacct	480
gatgttgcattt attcattgtc tgctggagc tcccaaattgc cttttatgct tacatattca	540
taaccaacaa cggctattaa ttataaacca aaaacacgaa ataagttgt agcaaagtga	600
aatttaggaat cttggagatg gatccattag tagtaggata ataggatatg atggaaatttg	660
gttggggAAC agtgcataact tacgcttgc tccggcgccg ggaaagttgg aaaaccta	720
aagtacagaa atggatctgg gccttgaagt gggctttta ttaaagaaaa aaatacatct	780
ccgttatcaa tcaccatctt cttctatcta caaattaaag aaggtaccaa cagaacgtgg	840
tggatcatgt ggttaggcatt taattatttgc ctttgcattcg ccgtttgggt aacacacaga	900
cacagttccg gtaagagctt ttgcagccac tctttatagt tatttagaat tggcgatcga	960
atcaatctca ctccctccct cccttaagtc ttgttgcattc tgctgaatttgc ttttataaag	1020
agttactttg gca	1033

<210> 126

<211> 19

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<221> Primer

<222> (1)..(19)

<223>

<400> 126
tgccaaagta actctttat

19

<210> 127

<211> 19

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<221> Primer

<222> (1)..(19)

<223>

<400> 127
agggtgcata ccaagtaac

19

<210> 128

<211> 996

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<221> misc_feature

<222> (1)..(996)

<223>

<400> 128
ggcacgagcc tctctctatt ttacacttc aatggcggca gcaattgctg tccctttag 60
ctcaagagcca ttggcttag gtcgaatgcg gttacttggt cataaaaccca caaccataac 120
ttgtcacttc ccctttctt ttcttatcaa atcatttacc ccaattgtta ggggcagaag 180
atgtactgtt tgaaaaatggcc cgggtggcga cagtaatagt aacagtaata ataatagtga 240
cagtaatagt aataatccgg gtctggattt aaacccggcg gttatgaacc gtaaccgttt 300
ggtgtgaagaa aaaatggaga ggaaaaaaatc ggaacgattt acttatctt gtcagctat 360
tatgtctact ttggaaatta cttcaatggc ggttatggcg gtttattacc ggaaaaatcg 420
gcaaatggag ggtggagaaa ttcccttatgt ggagatgttt ggtacatttgc ctctccgt 480
tggtgctgcg gtaggaatgg agtattgggc aagatggcgt catgaggcac tatggcatgc 540
ttcttgcgtt cacatgcgtt agtcacacca taagccacga gaaggtccgt ttgagctaa 600
tgatgtgttt gctataacaa atgcggtccc ggccattgcg ttgcttagtt atgggttttt 660
ccacaaaggc ataattccgg gtctttgttt tggggcggga ctggaaatta cggtgtttgg 720
aatggcgtat atgttcgtcc acgacgggct agttcacaga agattccaag tgggtccgat 780
tgcgaatgtt ccctatcttc gaagggttgc agcggctcat cagctgcattt acacggaaaa 840
attnaatggt gttccttatg gttttttttt gggacctaag gagctagaag aagtgggtgg 900
tacggaaagaa ttggacaagg agattcaaag aagaattaaa ttgtataata atactaaata 960
aataaaatttt gtataaaattt aatataattt aatgat 996

<210> 129

<211> 18

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<221> Primer

<222> (1)..(18)

<223>

<400> 129
atggaagctc ttctcaag

18

<210> 130

<211> 18

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<221> Primer

<222> (1)..(18)

<223>

<400> 130
accttaccta aaacattt

18

<210> 131

<211> 1045

<212> DNA

<213> Arabidopsis thaliana

<220>

<221> promoter

<222> (1)..(1045)

<223>

<400> 131
gtcgacaggt gcatgaccaa gtaacaattt gattccttc cagcataacg tcatgtgg 60
tgcaaaaaga aggcaaagta gagcaagcaa gcaagcaaag cattttctt attttatatt 120
ttgttgcgga ttccaccacc cacttgaaaa attgacatgt cacaatgatt tcgtatccta 180
gtctttatt attaacact ctcacaatcc cattactcta cacctcttc attaagtcaa 240
cacacggttt tcaaaaatcc actaccctcc caccacctag aatctttgt tacctaccaa 300
caccctcctt tggtctctt atatattggt ccaactaaat caataaggga aagcatcctt 360
ttggttggag gaattgcctt cattctcaact ctttgtgtgt tgatcaatgg actagcta 420
aacaagttcc tcctctatat atttcaaaag aatggaacag aaacataaac gaaagacaga 480
gtacctgatg ttgatgattc attgtctgtc tggagctccc aaatgcctt tatgcttaca 540
tattcataac caacaacggc tattaattat aaaccaaaaa cacgaaataa gttttagca 600
aagtgaaatt aggaatctt gагатggате cattagtagt aggataatag gatatgatgg 660
aatttggttg gggAACAGTG ataacttacg cttgcttccg gcGCCGGGAA agttggaaaa 720
cctacaaaatgg atctgggcct tgaagtggc tttttattaa agaaaaaaaaat 780
acatctccgt tatcaatcac catttcttc tatctacaaa ttaaagaagg taacaacaga 840
acgtgggtgga tcatgtggtt aggcataat tatttgcctt gtttgcgcgt tttggtaaca 900
cacagacaca gttccggtaa gagctttgc agccactctt tatagttatt tagaattggc 960
gatcgaatca atctcactcc ctccctccct taagtcttgc tgaatctgct gaattgtttt 1020
ataaaagagtt actttggcac ccggg 1045

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No PCT/EP2004/008623

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC 7 C12P23/00 C12N15/82 A23K1/00 C12N15/63

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
IPC 7 C12P C12N A23K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, WPI Data, PAJ, BIOSIS, EMBASE, FSTA, Sequence Search

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category °	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 02/079395 A (CARGILL INC.) 10 October 2002 (2002-10-10) page 4, line 17 - line 30 page 22, line 22 - line 25 -----	1-71
X	EP 0 725 137 A (KIRIN BREWERY) 7 August 1996 (1996-08-07) page 7, line 3 - line 29 -----	1-69
P, X	DE 102 38 980 A (SUNGENE GMBH & CO KGAA) 4 March 2004 (2004-03-04) '0072!-'0118!, '0195!, '0254!-'0257! -----	1-69
P, X	DE 102 53 112 A (SUNGENE GMBH & CO KGAA) 3 June 2004 (2004-06-03) '0074!-'0086! -----	1-71 -/-

Further documents are listed in the continuation of box C.

Patent family members are listed in annex.

° Special categories of cited documents :

- *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- *E* earlier document but published on or after the international filing date
- *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

T later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

X document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

Y document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

& document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

Date of mailing of the international search report

10 December 2004

27/12/2004

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patenttaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Schönwasser, D

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No PCT/EP2004/008623

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
P,X	DE 102 58 971 A (SUNGENE GMBH & CO KGAA) 1 July 2004 (2004-07-01) '0020!-'0067!, '0179! -----	1-71
P,X	DE 103 00 649 A (BASF AG) 22 July 2004 (2004-07-22) '0029!-'0057!, '0076!-'0089!, '0124! -----	1-71
A	KRUBASIK P ET AL: "Molecular evolution of lycopene cyclases involved in the formation of carotenoids with ionone end groups" BIOCHEMICAL SOCIETY TRANSACTIONS, vol. 28, no. 6, December 2000 (2000-12), pages 806-810, XP002309690 ISSN: 0300-5127 the whole document -----	1-69
A	RONEN GIL ET AL: "An alternative pathway to beta-carotene formation in plant chromoplasts discovered by map-based cloning of Beta and old-gold color mutations in tomato" PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE UNITED STATES OF AMERICA, vol. 97, no. 20, 26 September 2000 (2000-09-26), pages 11102-11107, XP002310093 ISSN: 0027-8424 the whole document -& DATABASE UniProt 9 October 2000 (2000-10-09), RONEN G. ET AL.: "Lycopersicon esculentum chromoplast-specific lycopene beta-cyclase mRNA, DE complete cds." XP002310094 Database accession no. AF254793 abstract -----	1-69

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No
PCT/EP2004/008623

Patent document cited in search report		Publication date		Patent family member(s)		Publication date
WO 02079395	A	10-10-2002	CA EP JP NO WO	2436366 A1 1377598 A2 2004528839 T 20033353 A 02079395 A2		10-10-2002 07-01-2004 24-09-2004 25-09-2003 10-10-2002
EP 0725137	A	07-08-1996	AT AU AU CA DE DE EP WO JP KR NO US	218162 T 689629 B2 3231095 A 2174745 A1 69526842 D1 69526842 T2 0725137 A1 9606172 A1 2960967 B2 178871 B1 961604 A 5910433 A		15-06-2002 02-04-1998 14-03-1996 29-02-1996 04-07-2002 07-11-2002 07-08-1996 29-02-1996 12-10-1999 01-04-1999 21-06-1996 08-06-1999
DE 10238980	A	04-03-2004	DE WO WO WO WO WO WO WO	10238980 A1 2004018688 A1 2004018693 A2 2004018385 A2 2004018694 A2 2004018695 A2 2004017749 A2 2004022765 A2		04-03-2004 04-03-2004 04-03-2004 04-03-2004 04-03-2004 04-03-2004 04-03-2004 18-03-2004
DE 10253112	A	03-06-2004	DE WO WO WO WO WO WO WO	10253112 A1 2004018693 A2 2004018385 A2 2004018694 A2 2004018695 A2 2004017749 A2 2004022765 A2		03-06-2004 04-03-2004 04-03-2004 04-03-2004 04-03-2004 04-03-2004 18-03-2004
DE 10258971	A	01-07-2004	DE WO WO WO WO WO WO WO	10258971 A1 2004018688 A1 2004018693 A2 2004018385 A2 2004018694 A2 2004018695 A2 2004017749 A2 2004022765 A2		01-07-2004 04-03-2004 04-03-2004 04-03-2004 04-03-2004 04-03-2004 04-03-2004 18-03-2004
DE 10300649	A	22-07-2004	DE WO WO WO	10300649 A1 2004063366 A1 2004063359 A2 2004063358 A1		22-07-2004 29-07-2004 29-07-2004 29-07-2004

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen
PCT/EP2004/008623

A. KLASIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES
IPK 7 C12P23/00 C12N15/82 A23K1/00 C12N15/63

Nach der internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierte Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)
IPK 7 C12P C12N A23K

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

EPO-Internal, WPI Data, PAJ, BIOSIS, EMBASE, FSTA, Sequence Search

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie ^a	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	WO 02/079395 A (CARGILL INC.) 10. Oktober 2002 (2002-10-10) Seite 4, Zeile 17 – Zeile 30 Seite 22, Zeile 22 – Zeile 25 -----	1-71
X	EP 0 725 137 A (KIRIN BREWERY) 7. August 1996 (1996-08-07) Seite 7, Zeile 3 – Zeile 29 -----	1-69
P,X	DE 102 38 980 A (SUNGENE GMBH & CO KGAA) 4. März 2004 (2004-03-04) '0072!-'0118!, '0195!, '0254!-'0257! -----	1-69
P,X	DE 102 53 112 A (SUNGENE GMBH & CO KGAA) 3. Juni 2004 (2004-06-03) '0074!-'0086! ----- -/-	1-71

Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen

Siehe Anhang Patentfamilie

- ^b Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :
- ^{*A} Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist
- ^{*E} älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem Internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist
- ^{*L} Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)
- ^{*O} Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht
- ^{*P} Veröffentlichung, die vor dem Internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist
- ^{*T} Spätere Veröffentlichung, die nach dem Internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist
- ^{*X} Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden
- ^{*Y} Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist
- ^{*&} Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der Internationalen Recherche

Absendedatum des Internationalen Recherchenberichts

10. Dezember 2004

27/12/2004

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde
Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Schönwasser, D

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP2004/008623

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
P, X	DE 102 58 971 A (SUNGENE GMBH & CO KGAA) 1. Juli 2004 (2004-07-01) '0020!-'0067!, '0179! -----	1-71
P, X	DE 103 00 649 A (BASF AG) 22. Juli 2004 (2004-07-22) '0029!-'0057!, '0076!-'0089!, '0124! -----	1-71
A	KRUBASIK P ET AL: "Molecular evolution of lycopene cyclases involved in the formation of carotenoids with ionone end groups" BIOCHEMICAL SOCIETY TRANSACTIONS, Bd. 28, Nr. 6, Dezember 2000 (2000-12), Seiten 806-810, XP002309690 ISSN: 0300-5127 das ganze Dokument -----	1-69
A	RONEN GIL ET AL: "An alternative pathway to beta-carotene formation in plant chromoplasts discovered by map-based cloning of Beta and old-gold color mutations in tomato" PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE UNITED STATES OF AMERICA, Bd. 97, Nr. 20, 26. September 2000 (2000-09-26), Seiten 11102-11107, XP002310093 ISSN: 0027-8424 das ganze Dokument -& DATABASE UniProt 9. Oktober 2000 (2000-10-09), RONEN G. ET AL.: "Lycopersicon esculentum chromoplast-specific lycopene beta-cyclase mRNA, DE complete cds." XP002310094 Database accession no. AF254793 Zusammenfassung -----	1-69

INTERNATIONALES RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen
PCT/EP2004/008623

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument		Datum der Veröffentlichung		Mitglied(er) der Patentfamilie		Datum der Veröffentlichung
WO 02079395	A	10-10-2002	CA EP JP NO WO	2436366 A1 1377598 A2 2004528839 T 20033353 A 02079395 A2		10-10-2002 07-01-2004 24-09-2004 25-09-2003 10-10-2002
EP 0725137	A	07-08-1996	AT AU AU CA DE DE EP WO JP KR NO US	218162 T 689629 B2 3231095 A 2174745 A1 69526842 D1 69526842 T2 0725137 A1 9606172 A1 2960967 B2 178871 B1 961604 A 5910433 A		15-06-2002 02-04-1998 14-03-1996 29-02-1996 04-07-2002 07-11-2002 07-08-1996 29-02-1996 12-10-1999 01-04-1999 21-06-1996 08-06-1999
DE 10238980	A	04-03-2004	DE WO WO WO WO WO WO WO	10238980 A1 2004018688 A1 2004018693 A2 2004018385 A2 2004018694 A2 2004018695 A2 2004017749 A2 2004022765 A2		04-03-2004 04-03-2004 04-03-2004 04-03-2004 04-03-2004 04-03-2004 04-03-2004 18-03-2004
DE 10253112	A	03-06-2004	DE WO WO WO WO WO WO WO	10253112 A1 2004018693 A2 2004018385 A2 2004018694 A2 2004018695 A2 2004017749 A2 2004022765 A2		03-06-2004 04-03-2004 04-03-2004 04-03-2004 04-03-2004 04-03-2004 18-03-2004
DE 10258971	A	01-07-2004	DE WO WO WO WO WO WO WO	10258971 A1 2004018688 A1 2004018693 A2 2004018385 A2 2004018694 A2 2004018695 A2 2004017749 A2 2004022765 A2		01-07-2004 04-03-2004 04-03-2004 04-03-2004 04-03-2004 04-03-2004 04-03-2004 18-03-2004
DE 10300649	A	22-07-2004	DE WO WO WO	10300649 A1 2004063366 A1 2004063359 A2 2004063358 A1		22-07-2004 29-07-2004 29-07-2004 29-07-2004